

**PENGARUH PEMBERIAN DIET *HIGH FAT HIGH FRUCTOSE*
MODIFIKASI AIN-93M TERHADAP JUMLAH SEL BETA DAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*
JANTAN MODEL OBESITAS**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Gizi**



Oleh:

Luh Shanti Kuswandari

155070301111038

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2019

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Obesitas	5
2.1.1 Pengertian Obesitas.....	5
2.1.2 Faktor Resiko Obesitas	5
2.1.3 Hubungan Obesitas dengan Diabetes Mellitus	8
2.2 Pankreas	11
2.2.1 Pulau Langerhans dan Sel Beta.....	11
2.3 Hewan Coba.....	14
2.3.1 Pemilihan Tikus <i>Sprague Dawley</i> (SD).....	14
2.4 Diet Standar Hewan Coba	15
2.4.1 Diet Normal Standar AIN-93M.....	16
2.5 Diet HFHF.....	17
2.5.1 Hubungan Pemberian Diet HFHF terhadap Jumlah Sel Beta dan Gambaran Histopatologi Pulau Langerhans Pankreas	18
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	20
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	21

3.3 Hipotesis Penelitian	22
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	23
4.2 Populasi dan Sampel.....	23
4.3 Variabel Penelitian.....	26
4.4 Waktu dan Lokasi Penelitian	26
4.5 Bahan dan Alat	26
4.6 Definisi Operasional.....	29
4.7 Prosedur Penelitian	32
4.8 Analisis Data	38
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Karakteristik Tikus Penelitian	39
5.2 Kandungan Zat Gizi yang Diberikan pada Tikus Penelitian.....	40
5.3 Asupan Pakan dan Zat Gizi pada Tikus Penelitian.....	41
5.4 Perubahan Berat Badan dan Berat Badan Akhir Tikus	44
5.5 Jumlah Sel Beta pada Tikus Penelitian.....	46
5.6 Gambaran Histopatologi Pankreas	48
BAB VI PEMBAHASAN	
6.1 Asupan Rata-Rata Zat Gizi pada Tikus yang Diberi Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M	50
6.2 Pengaruh Pemberian Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M Terhadap Jumlah Sel Beta Pankreas	52
6.3 Pengaruh Pemberian Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M Terhadap Histopatologi Pankreas	57
6.4 Keterbatasan Penelitian	60
BAB VII PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	61
7.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi AIN-93M	16
Tabel 5.1 Karakteristik Tikus Penelitian	39
Tabel 5.2 Kandungan Zat Gizi dalam 100 gram Pakan Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M	40
Tabel 5.3 Kandungan Zat Gizi dalam 100 ml Fruktosa 30%	40
Tabel 5.4 Rata-rata Energi Intake Pakan Tikus.....	42
Tabel 5.5 Rata-rata Energi Intake Minuman Tikus	42
Tabel 5.6 Rata-rata Energi Intake Total Makanan dan Minuman Tikus	43
Tabel 5.7 Rata-rata Berat Badan Tikus	45
Tabel 5.8 Rata-rata Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.2 Histopatologi Pulau Langerhans.....	13
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	20
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	32
Gambar 5.1 Rata – rata Asupan Energi Tikus.....	44
Gambar 5.2 Tren Berat Badan Tikus	45
Gambar 5.3 Diagram Jumlah Sel Beta Pankreas.....	47
Gambar 5.4 Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus	48
Gambar 5.5 Bagian dari Gambaran Histopatologi Pankreas	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Pembuatan Diet	67
Lampiran 2. Alur Pembuatan Fruktosa.....	68
Lampiran 3. Alur Pembuatan Slide Histologi	69
Lampiran 4. Analisis Statistik Berat Badan Tikus	73
Lampiran 5. Analisis Statistik Asupan Diet dan Zat Gizi Tikus.....	77
Lampiran 6. Analisis Statistik Jumlah Sel Beta	86
Lampiran 7. Jadwal Kegiatan.....	87
Lampiran 8. Dokumentasi	89
Lampiran 9. Keterangan Kelaikan Etik	92

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN DIET *HIGH FAT HIGH FRUCTOSE*
MODIFIKASI AIN-93 M TERHADAP JUMLAH SEL BETA DAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* JANTAN
MODEL OBESITAS**

Oleh:

Luh Shanti Kuswandari
NIM 155070301111038

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 7 Januari 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I,

Handwritten signature: H. M.

Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes
NIP. 197511252005012001

Pembimbing I/Penguji II,

dr. Sri Andayani, M.Kes

Dr. dr. Sri Andayani, M.Kes
NIP. 19761117 200801 2 009

Pembimbing II/Penguji III,

[Signature]

Adelya Desi K, S.TP, MP, M.Sc
NIP. 19741113 200501 2 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Gizi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Ketua Pro
Fakultas Kedokt


Dian Handayani

Dian Handayani, SIKM, M.Kes, PhD
NIP. 197404022003122002

ABSTRAK

Kuswandari, Luh Shanti. 2019. Pengaruh Pemberian Diet *High Fat High Fructose* Modifikasi AIN-93M Terhadap Jumlah Sel Beta dan Histopatologi Pankreas Tikus *Sprague Dawley* Jantan Model Obesitas. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Sri Andarini M.Kes., (2) Adelya Desi Kurniawati, S.TP, MP. M.Sc

Obesitas didefinisikan sebagai kumpulan lemak berlebih yang dapat mengganggu kesehatan. Obesitas disebabkan oleh asupan energi berlebih dan konsumsi tinggi lemak yang selanjutnya dapat menyebabkan perbesaran dan peningkatan jaringan lemak tubuh. Selain itu, konsumsi tinggi fruktosa juga dapat menyebabkan terjadinya obesitas. Kondisi obesitas dapat berujung pada kondisi hiperglikemi yang selanjutnya akan menyebabkan kegagalan sel beta dalam merespon kadar glukosa darah yang tinggi. Hal ini menyebabkan abnormalitas jalur transduksi sinyal insulin sel beta dan terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin yang terus menerus akan menyebabkan gangguan pada sel beta pankreas yang berujung pada apoptosis sel beta. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah sel beta pankreas dan gambaran histopatologi pankreas pada tikus *Sprague Dawley* (SD) Jantan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M dan diet *High Fat High Fructose* (HFHF) modifikasi AIN-93M dengan uji eksperimen *post test with control group design* selama 17 minggu. Tikus SD Jantan sejumlah 36 ekor dibagi menjadi dua kelompok perlakuan yaitu kelompok N yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M, serta kelompok L yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dan cairan fruktosa 30%. Perhitungan sel beta dilakukan dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x yang kemudian dihitung dengan menggunakan *cell counter* sebanyak 5 lapang pandang. Hasil perhitungan sel beta pankreas menunjukkan bahwa jumlah sel beta pada kelompok N sebesar 126.76 ± 14.71 dan pada kelompok L sebesar 77.13 ± 14.54 . Hasil penelitian ini kemudian di analisis menggunakan SPSS 20.00 for windows dengan uji normalitas dan uji beda Independent T-Test. Hasil Uji statistic menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata jumlah sel beta pankreas pada kedua kelompok. Dari hasil pengamatan histopatologi pankreas, pada kelompok N pulau Langerhans masih terlihat baik dapat dilihat dari bentuk yang hampir bulat dan sel terlihat masih rapat. Sedangkan pada tikus kelompok L sudah mulai mengalami kerusakan dilihat dari perubahan bentuk menjadi tidak beraturan dan sudah banyak ruang kosong antar sel. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M berpengaruh terhadap jumlah sel beta pankreas dan gambaran histopatologi pankreas.

Kata Kunci: *High Fat High Fructose* (HFHF), Histopatologi Pankreas, Sel Beta Pankreas, Obesitas

ABSTRACT

Kuswandari, Luh Shanti. 2019. The Effect of High-Fat High Fructose Diet Modification of AIN-93M on Sprague Dawley Male Rat's Beta Cell and Pancreatic Histopathology. Final Assignment, Nutrition Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Sri Andarini M.Kes., (2) Adelya Desi Kurniawati, S.TP, MP. M.Sc

Obesity is defined as excessive fat accumulation which can interfere with health. Obesity is caused by excessive energy intake and high fat consumption which the next can cause enlargement and increase in body fat tissue. Besides consuming high fat, consumption of high fructose can also cause obesity. Obesity conditions can lead to hyperglycemic conditions which in turn will cause beta cell failure in response to high blood glucose levels. This causes abnormalities of the beta cell insulin signal transduction pathway and insulin resistance. Continuous insulin resistance will cause disruption in pancreatic beta cells which leads to beta cell apoptosis. This study puposed to determine the differences in the number of pancreatic beta cells and pancreatic histopathology in male Sprague Dawley (SD) rats, who were given a diet of High Fat High Fructose (HFHF) modified AIN-93M and a normal diet modified AIN-93M through post test with control group design for 17 weeks. 36 SD rats were devided into two groups, N group who were given a modified normal AIN-93M diet and the L group who were given a modified High Fat High Fructose (HFHF) AIN-93M diet and 30% fructose liquid. Beta cell calculations are carried out with a 400x magnification light microscope which is then calculated using a cell counter of 5 fields of view. The results of calculation of pancreatic beta cells showed that the number of beta cells in group N was 126.76 ± 14.71 cells and in group L was 77.13 ± 14.54 cells. The results of this study were then analyzed using SPSS 20.00 for windows with normality tests and Independent T-Test different tests. The statistical test results showed that there were significant differences in the average number of pancreatic beta cells in the two groups. From the results of observations of pancreatic histopathology, in group N the island of Langerhans still looks good can be seen from the shape that is almost round and the cell looks still tight. Whereas in group L rats have begun to experience damage seen from changes in shape to become irregular and there is a lot of empty space between cells. Based on the results of the study, it can be concluded that the AIN-93M modified HFHF diet affected the number of pancreatic beta cells and pancreatic histopathology.

Keywords: Beta Cell, High Fat High Fructose (HFHF), Obesity, Pancreatic Histopathology

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas merupakan salah satu masalah kesehatan yang banyak terjadi pada zaman modern ini. Obesitas didefinisikan sebagai akumulasi lemak berlebihan yang dapat mengganggu kesehatan (World Health Organization, 2012). Hingga saat ini obesitas sudah menjadi masalah kesehatan endemik dunia. Pada tahun 2014 terdapat lebih dari 1,9 milyar orang dewasa diatas 18 tahun mengalami kelebihan berat badan dan lebih dari 600 juta orang mengalami obesitas (World Health Organization, 2015). Prevalensi obesitas di Indonesia pada laki-laki tahun 2010 sekitar 15% sedangkan pada tahun 2013 meningkat menjadi 20% (Riset Kesehatan Dasar, 2013).

Obesitas disebabkan oleh asupan energi berlebih dan konsumsi tinggi lemak yang selanjutnya akan menyebabkan perbesaran dan peningkatan jaringan lemak tubuh. Hal ini akan memicu terjadinya proses inflamasi yang dapat meningkatkan lipolisis dan menurunkan penyimpanan trigliserida pada jaringan otot. Peningkatan lipolisis dan penurunan penyimpanan trigliserida menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas dan trigliserida dalam darah (Guilherme *et al.*, 2008).

Peningkatan konsentrasi asam lemak bebas dapat mengganggu proses masuknya glukosa ke sel sehingga terjadi hiperglikemi yang menghasilkan respon produksi insulin berlebih atau disebut hiperinsulinemia. Kegagalan sel beta dalam merespon kadar glukosa darah yang tinggi akan menyebabkan abnormalitas jalur transduksi sinyal insulin sel beta dan terjadi

resistensi insulin. Resistensi insulin yang terus menerus akan menyebabkan gangguan pada sel beta pankreas yang berujung pada apoptosis sel beta (Guilherme *et al.*, 2008). Semakin banyak sel beta yang mengalami apoptosis maka akan menyebabkan terjadinya perubahan histopatologi pankreas terutama pada kerapatan dan bentuk pulau Langerhans. Dikarenakan ada hubungan antara obesitas dengan apoptosis pada sel beta dan perubahan pada gambaran pulau Langerhans, maka jumlah sel beta dan histopatologi pankreas dapat dijadikan marker obesitas.

Saat ini semakin banyak penelitian tentang obesitas, salah satunya dengan menggunakan hewan coba antara lain tikus. Untuk membuat hewan coba menjadi obesitas maka diperlukan pakan yang sesuai. Mutiyani *et al.*, (2014) melakukan penelitian dengan memberikan diet tinggi lemak (*High Fat Diet*, HFD) pada hewan coba dan menunjukkan bahwa pemberian HFD dapat meningkatkan berat badan tikus dan menyebabkan penurunan kepadatan pada sel beta pankreas. Selain itu pada penelitian yang dilakukan Luhu (2015) pemberian diet tinggi fruktosa (*High Fructose*, HF) juga dapat menyebabkan peningkatan berat badan dan peningkatan lipolisis. Sehingga pemberian HFD dan HF keduanya dapat dikombinasikan untuk menghasilkan kondisi obesitas pada tikus yang selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel beta pankreas dan perubahan pada gambaran histopatologi pankreas terutama pulau Langerhans.

Selama ini belum ada standar khusus mengenai diet tinggi lemak tinggi fruktosa (*High Fat High Fructose*, HFHF) untuk hewan coba, sehingga pada penelitian kali ini pembuatan diet HFHF mengacu pada diet AIN-93M yang dimodifikasi. Diet AIN 93-M merupakan standar diet internasional untuk

hewan coba tikus yang ditetapkan oleh *American Institute of Nutrition* (AIN). Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi pada bahan dasar pembuatan dan persen lemak pakan.

Dikarenakan pemberian HFD dan HF keduanya dapat menyebabkan terjadinya obesitas yang dapat mengakibatkan apoptosis pada sel beta dan berujung pada perubahan gambaran pulau langerhans, peneliti ingin mengetahui lebih detail mengenai pengaruh pemberian HFHF modifikasi AIN-93M terhadap jumlah sel beta dan histopatologi pankreas tikus SD jantan model obesitas.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M terhadap jumlah sel beta dan histopatologi pankreas tikus SD jantan model obesitas?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M terhadap jumlah sel beta dan histopatologi pankreas tikus SD jantan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui pengaruh asupan diet terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus SD jantan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M dan diet HFHF modifikasi AIN-93M.

1.3.2.2 Mengetahui perbedaan jumlah sel beta pankreas pada tikus SD jantan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M dan diet HFHF modifikasi AIN-93M.

1.3.2.3 Mengetahui pengaruh asupan diet terhadap gambaran histopatologi pankreas pada tikus SD jantan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M dan diet HFHF modifikasi AIN-93M.

1.3.2.4 Mengetahui perbedaan gambaran histopatologi pankreas pada tikus SD jantan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M dan diet HFHF modifikasi AIN-93M.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Mengetahui pengaruh pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M terhadap histopatologi pankreas dan jumlah sel beta tikus SD jantan, sehingga dapat memberikan informasi mengenai pengaruh diet HFHF terhadap kejadian obesitas, pengaruhnya terhadap histopatologi pankreas, dan jumlah sel beta.

1.4.2 Manfaat Praktis

Meningkatkan pengetahuan masyarakat bahwa konsumsi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa dapat berpengaruh terhadap jumlah sel beta dan histopatologi pankreas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obesitas

2.1.1 Pengertian Obesitas

Obesitas didefinisikan sebagai akumulasi lemak berlebih pada tubuh yang dapat mengganggu kesehatan (World Health Organization, 2012). Obesitas terjadi karena asupan energi lebih tinggi bila dibandingkan dengan energi yang dikeluarkan. Asupan energi yang tinggi disebabkan oleh konsumsi makanan berlebih, sedangkan energi yang dikeluarkan rendah disebabkan oleh metabolisme tubuh yang rendah dan kurangnya aktivitas fisik. Kelebihan energi akan disimpan dalam bentuk jaringan lemak subkutan. Obesitas tipe android dapat beresiko mengalami sindrom metabolik dan penyakit kardiovaskular, terutama jika terdapat lemak visceral yang berlebihan (Harris, 2009).

Obesitas akan menyebabkan perbesaran dan peningkatan jaringan lemak tubuh. Hal ini memicu terjadinya proses inflamasi yang dapat meningkatkan lipolisis dan menurunkan penyimpanan trigliserida pada jaringan otot. Peningkatan lipolisis dan penurunan penyimpanan trigliserida menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas dan trigliserida dalam darah (Guilherme *et al.*, 2008).

2.1.2 Faktor Risiko Obesitas

1. Faktor Genetik

Obesitas cenderung diturunkan atau diwariskan oleh keluarga secara genetik. Tidak hanya dari sisi gen atau keturunan, tetapi makanan dan kebiasaan atau gaya hidup keluarga juga berpotensi mendorong

terjadinya obesitas. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa rata-rata faktor genetik memberikan pengaruh sebesar 33% terhadap berat badan seseorang (El-baz *et al.*, 2009).

2. Faktor Lingkungan

Gen merupakan faktor yang penting, tetapi lingkungan juga sangat berpengaruh terhadap kejadian obesitas. Yang dimaksud dengan lingkungan adalah termasuk perilaku dan gaya hidup seseorang. Misalnya seberapa sering dan makanan apa yang dikonsumsi oleh seseorang serta bagaimana aktivitas orang tersebut (Sutanto, 2010).

3. Usia

Usia diyakini memiliki pengaruh terhadap peningkatan prevalensi obesitas. Perubahan usia berkaitan dengan peningkatan distribusi jaringan lemak yang ditandai dengan meningkatnya ukuran pinggang seseorang. Pada penelitian sebelumnya didapatkan data bahwa obesitas meningkat pada usia 31-33 tahun. Prevalensi tertinggi pada wanita usia 55-64 tahun (28% obesitas general dan 73.4% obesitas sentral), sedangkan pada laki-laki dengan usia 45-54 tahun (34.7% obesitas sentral) (Marques-Vidal *et al.*, 2008).

4. Aktifitas Fisik

Kurangnya aktivitas fisik merupakan salah satu penyebab terjadinya obesitas. Seseorang yang cenderung mengkonsumsi makanan dengan kandungan lemak tinggi tanpa diimbangi dengan aktifitas fisik akan mengalami obesitas. Hal ini dikarenakan energi yang diasup lebih besar dari pada energi yang dikeluarkan sehingga terjadi penumpukan lemak tubuh (Sutanto, 2010).

5. Sosial Ekonomi

Peningkatan status sosial dan perubahan gaya hidup mengarah pada perubahan pola konsumsi dari makanan tradisional menuju makanan ala barat yang mengandung tinggi lemak seperti steak, hamburger, dan makanan cepat saji. Selain itu gaya hidup di kalangan masyarakat kota membuat seseorang sedikit melakukan aktifitas fisik (National Association of Counties, 2008).

6. Faktor Psikis

Apa yang ada dalam pikiran seseorang bisa mempengaruhi kebiasaan makannya. Banyak orang yang memberikan reaksi terhadap emosinya melalui makanan (El-baz *et al.*, 2009).

7. Faktor Kesehatan

Beberapa penyakit dapat menyebabkan obesitas antara lain hipotiroidisme, sindrom Chusing, sindrom Prader-Willi, dan beberapa kelainan syaraf dapat menyebabkan seseorang banyak makan (Sutanto, 2010).

8. Faktor Pengetahuan

Faktor pengetahuan mempengaruhi terhadap terjadinya obesitas, pengetahuan mengenai cara pengolahan makanan dan kandungan gizi dalam bahan makanan mempengaruhi jenis makanan yang dikonsumsi. Sehingga jika pengetahuan mengenai kandungan gizi dan cara pengolahan makanan yang baik kurang akan memberikan resiko terhadap terjadinya obesitas (Winaryati *et al.*, 2012)

9. Obat-obatan

Obat-obatan tertentu seperti steroid dan beberapa antidepresi bisa menyebabkan penambahan berat badan (Sutanto, 2010) .

2.1.3 Hubungan Obesitas dengan Kerusakan Sel Beta

Obesitas dapat menyebabkan perbesaran dan peningkatan jumlah sel lemak yang dibarengi dengan sekresi MCP-1 dalam jumlah berlebih. *Monocyte Chemoattractant Protein-1* merupakan suatu peptida yang disekresikan oleh adiposit dan berfungsi untuk mengatur metabolisme trigliserida dan asam lemak di dalam adiposit. Sekresi MCP-1 dalam jumlah berlebih disebut dengan kondisi proinflamasi dan memicu infiltrasi makrofag ke dalam adiposit. Makrofag akan mensekresikan TNF- α dan IL1 β sebagai respon dari inflamasi. Inflamasi akan mengakibatkan disfungsi adiposit yang berlanjut pada peningkatan lipolisis dan menurunnya penyimpanan trigliserida pada jaringan otot. Peningkatan lipolisis dan penurunan penyimpanan trigliserida menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas dan trigliserida dalam darah (Guilherme *et al.*, 2008).

Asam lemak bebas yang terakumulasi di jaringan akan menginduksi terjadinya resistensi insulin terutama pada hati dan otot. Mekanisme resistensi insulin oleh asam lemak terjadi akibat adanya kompetisi asam lemak dan glukosa untuk berikatan dengan reseptor insulin. Oksidasi asam lemak akan menyebabkan peningkatan asetil koA pada mitokondria dan terjadi inaktivasi enzim piruvat dehidrogenase. Hal ini akan menginduksi peningkatan pada kadar sitrat intraseluler yang akan menghambat akumulasi fosfo-fruktokinase dan glukosa-6 phosphat. Hal ini menyebabkan akumulasi

glukosa interselular dan mengurangi uptake glukosa dari ekstraseluler (Lê *et al.*, 2006)

Resistensi insulin menyebabkan berkurangnya penggunaan glukosa yang dimediasi oleh insulin di jaringan perifer. Kekurangan insulin atau resistensi insulin akan menyebabkan terjadinya kegagalan pada poliferasi kompleks IRS, penurunan translokasi GLUT-4 dan penurunan oksidasi glukosa sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan akan terjadi hiperglikemia. Sel beta pankreas pada awalnya akan melakukan kompensasi untuk merespon keadaan hiperglikemi dengan memproduksi insulin dalam jumlah yang banyak dan berujung pada keadaan hiperinsulinemia (Sulityoningrum, 2010).

Jika hiperinsulinemia terjadi terus menerus akan menyebabkan kegagalan pada seln beta dalam merespon kadar glukosa darah yang tinggi sehingga terjadi abnormalitas pada jalur transduksi sinyal insulin pada sel beta dan terjadilah resistensi insulin. Resistensi insulin pada sel beta pankreas akan menyebabkan aktivasi jalur caspase dan peningkatan kadar ceramide yang selanjutnya akan menginduksi apoptosis pada sel beta. Apoptosis yang terjadi pada sel beta selanjutnya diikuti dengan berkurangnya masa sel beta pada pankreas dan hal ini dapat menyebabkan berkurangnya sintesis insulin yang berujung pada diabetes melitus tipe 2 (Ten and Maclaren, 2004).

Hiperglikemi dapat menyebabkan peningkatan pada produksi radikal bebas terutama spesies oksigen reaktif (ROS). Jika akumulasi ROS berlebih untuk jangka waktu yang lama akan menyebabkan stres oksidatif kronis, selain itu peningkatan ROS dapat menyebabkan kematian pada sel. Stres

oksidatif dapat mengakibatkan kematian sel dan berbahaya bagi pulau Langerhans, termasuk pada sel beta yang sangat rentan terhadap sitotoksitas ROS yang diakibatkan oleh rendahnya enzim antioksidan dalam pulau Langerhans (Mustofa *et al.*, 2010). Pada penelitian Zhang *et al.* (2010) terjadi peningkatan apoptosis pada sel beta sekitar 3-10 kali lipat pada penderita DM dibandingkan dengan orang normal.

Mekanisme kematian sel beta pankreas juga melibatkan IL-1 beta, nukleofaktor (NF) kappa beta, dan Fas. Pelepasan sitokin-sitokin seperti IL-1 beta, TNF, IFN alfa, IFN beta, IFN gama dan nukleofaktor selanjutnya menginduksi apoptosis pada sel beta melalui serangkaian transkripsi gen. Aktivasi NF kappa beta memicu produksi nitric oxide (NO), chemokin dan deplesi Calcium pada retikulum endoplasma (stress retikulum). Stress retikulum akan mengaktifkan mitogen activated protein kinase (MAPK) dan pelepasan sinyal apoptosis oleh mitokondria yang menyebabkan kematian sel beta (Ahima, 2015).

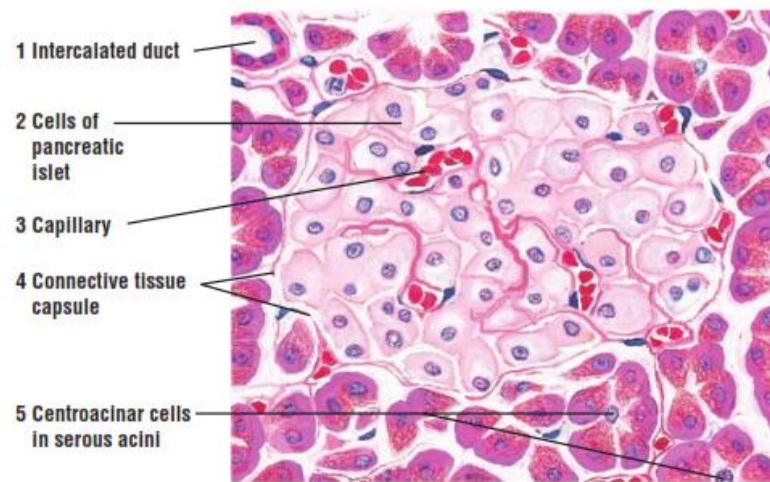
Paparan dari diet tinggi glukosa dan lemak bebas dapat menyebabkan glukotoksik yang mengakibatkan disfungsi sel beta dan memicu terjadinya apoptosis. Pada penelitian tikus Zucker yang gemuk dan diabetes, peningkatan kronis kadar asam lemak plasma mula-mula akan mengakibatkan gangguan fisiologis dari sekresi insulin. Seiring dengan waktu terjadi apoptosis pada sel beta dan massa sel beta akan berkurang hingga lebih dari 50%. Di dalam sel beta, peningkatan asil koA lemak akan meningkatkan pembentukan seramid yang dapat memperkuat pembentukan oksidasi nitrat yang bersifat mematikan untuk sel beta (Unger and Orci, 2000).

2.2 Pankreas

Pankreas terdiri dari dua jaringan utama yaitu acini yang mengeluarkan cairan pencernaan ke duodenum dan pulau langerhans yang mensekresi insulin dan glukagon langsung ke dalam darah.

2.2.1 Pulau Langerhans dan Sel Beta

Pankreas manusia memiliki 1 sampai 2 juta pulau langerhans. Setiap pulau masing-masing berdiameter 0.3 mm dan terpusat mengelilingi pembuluh kapiler di mana sel-sel memproduksi hormon. Pada setiap pulau langerhans tersusun atas tiga tipe sel utama yaitu sel alfa, sel beta, dan sel delta yang dapat dibedakan antara satu dengan lainnya melalui karakteristik morfologi dan pewarnaan. Pulau Langerhans 60% bagiannya terdiri dari sel beta dan terletak di tengah pulau. Sel beta berfungsi untuk mensekresi insulin dan amilin. Selanjutnya 25% dari pulau langerhans merupakan sel alpha yang berfungsi mensekresi glukagon dan 10% dari pulau langerhans merupakan sel delta yang berfungsi untuk mensekresi somatostatin. Selain itu sebagian kecil pulau langerhans diisi oleh sel PP yang mensekresi hormol polipeptida pankreas. Hormon-hormon ini saling berhubungan, seperti insulin menghambat sekresi glukagon, amilin menghambat sekresi insulin, dan somatostatin menghambat sekresi dari insulin dan glukagon (Guyton, 2014).

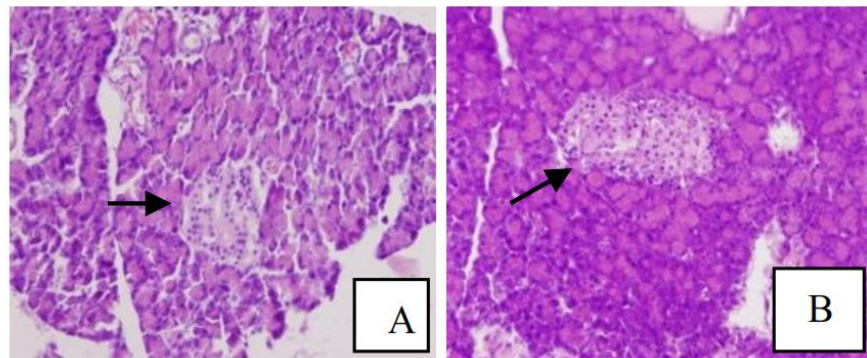


Gambar 2.1 Histopatologi Pankreas (Allen, 2008)

Keterangan: Gambaran histopatologi pankreas terdiri atas saluran intercalate (1), sel-sel endokrin (2), pembuluh kapiler (3), kapsul jaringan ikat (4), dan sel-sel acini (5)

Pada gambar 2.1 terlihat bahwa bagian berwarna pucat adalah pulau langerhans. Sel-sel endokrin (2) membentuk susunan seperti tali dan rumpun yang diantaranya ditemukan jaringan ikat fiber dan jaringan kapiler (3). Sebuah kapsul jaringan ikat tipis memisahkan sel endokrin pankreas dengan sel-sel eksokrin pankreas yaitu sel acini (5). Sel-sel acini berhubungan dengan saluran intercalate (1) (Allen, 2008).

Kondisi morfologi pulau Langerhans pada diabetes tipe 2 secara detail diteliti oleh Deng., *et al* (2004). Hasilnya dilaporkan bahwa pada keadaan normal jumlah sel beta diperkirakan 65% dan sel alpha 35%. Pada tikus yang menderita diabetes derajat sedang ditemukan hampir 67% pulau Langerhans berdiameter kurang dari 150 mikrometer, sedangkan pada tikus normal jumlah pulau Langerhans yang berdiameter lebih dari 150 mikrometer sekitar 50%. Selain terjadinya perubahan pada ukuran, pada bentuk langerhans juga terjadi fragmentasi pulau Langerhans. Pada kondisi diabetes derajat sedang, jumlah sel beta berkurang.



Gambar 2.2 Histopatologi Pulau Langerhans (Fransisca et al, 2014)

Keterangan: Gambaran histopatologi pankreas pada kontrol positif tikus diabetes (A) dan gambaran histopatologi pankreas kontrol negatif yaitu tikus yang tidak diabetes (B)

Pada gambar 2.2 terlihat adanya perbedaan histologi pankreas antara kelompok A dan kelompok B. Kelompok A merupakan kelompok kontrol positif pada tikus diabetes dan dibandingkan dengan kelompok B yang merupakan kelompok kontrol negatif yang tidak diabetes. Preparat histopatologi kelompok A menunjukkan adanya perubahan yaitu terjadi degenerasi sel endokrin yang intinya berubah menjadi tidak seragam. Perubahan yang terjadi yaitu inti sel mulai menghilang sehingga hanya terlihat sitoplasma yang kosong. Selain itu sel-sel endokrin tidak tersebar merata di pulau Langerhans. Ukuran pulau Langerhans juga menjadi lebih kecil dan kerapatan berkurang atau terdapat banyak rongga. Sedangkan pada kelompok B sel-sel endokrin terlihat lebih banyak dan tersebar merata keseluruhan pulau Langerhans, ukuran pulau Langerhans lebih besar dan rongga lebih sedikit (Fransisca et al, 2014)

2.3 Hewan Coba

Hewan coba merupakan setiap hewan yang digunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan standar dan syarat dasar yang diperlukan pada penelitian tersebut. Dalam menggunakan hewan coba untuk penelitian diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai aspek tentang sarana biologis dalam hal penggunaan hewan coba laboratorium. Pengelolaan hewan coba diawali dengan pengadaan hewan coba yang meliputi pemilihan dan seleksi jenis hewan coba yang cocok terhadap penelitian. Pengelolaan dilanjutkan dengan perawatan dan pemeliharaan hewan selama penelitian berlangsung, pengambilan data, sampai akhirnya dilakukan terminasi hewan coba pada penelitian (Ridwan, 2013).

Beberapa alasan mengapa pada penelitian khususnya dibidang kesehatan, pangan dan gizi perlu menggunakan hewan coba adalah dapat dilakukan pada penelitian yang beresiko tinggi, dapat memperoleh informasi mendalam dari penelitian yang dilakukan karena kita dapat membuat sediaan biologi dari organ hewan yang digunakan, variabel penelitian lebih mudah dikontrol, dan pemilihan jenis hewan dapat disesuaikan dengan kepekaan hewan terhadap penelitian yang akan dilakukan (Rustiawan dalam Ridwan 2013). Penelitian yang memanfaatkan hewan coba harus menggunakan hewan coba yang sehat dan berkualitas sesuai dengan materi penelitian. Hewan coba tersebut harus dikembangbiakkan dan dipelihara secara khusus di lingkungan yang diawasi dan dikontrol ketat (Sihombing, 2010).

2.3.1 Pemilihan Tikus (*Sprague Dawley*) sebagai Hewan Coba

Salah satu hewan yang paling sering digunakan dalam penelitian adalah tikus. Saat ini tikus yang paling sering digunakan dalam penelitian di

laboratorium hewan coba di Indonesia antara lain Wistar (asalnya dikembangkan di Institut Wistar) dan *Sprague Dawley* (tikus albino yang dihasilkan di tanah pertanian *Sprague-Dawley*) (Komisi Etik Penelitian, 2011).

Tikus *sprague dawley* (SD) merupakan salah satu strain yang sering digunakan untuk mempelajari obesitas karena tikus tersebut sensitif terhadap kenaikan berat badan jika dipapar dengan diet tinggi lemak. Tikus SD memiliki kemampuan untuk merespon diet tinggi lemak dengan dosis 32-45% dari total kalori yang diberikan (Gajda, 2008).

2.4 Diet Standar Hewan Coba

Diet standar merupakan diet yang mengalami proses standarisasi. Diet pada hewan coba sendiri memiliki beberapa jenis diet standar yang dirancang berdasarkan tujuan dari penelitian. Instansi Internasional yang mengurus proses standarisasi dari diet standar hewan coba adalah American Institute of Nutrition (AIN). Sejak tahun 1973 AIN sudah membentuk kepengurusan untuk mengidentifikasi standar diet penelitian terkait gizi dengan menggunakan hewan pengerat sebagai hewan coba. Tujuan akhir dari penelitian ini adalah untuk membantu peneliti dalam memenuhi zat gizi hewan coba dalam penelitian mereka (Reeves *et al.*, 1993).

Tujuan dari standarisasi diet tikus adalah untuk mengurangi variasi pada pemberian diet tikus. Sejak terbentuknya kepengurusan pada tahun 1973 akhirnya terciptalah AIN-76 sebagai standar diet untuk tikus percobaan. Pada sebuah workshop tahun 1982 AIN-76 direvisi menjadi standar diet AIN-76A. Selanjutnya pada sebuah pertemuan Federation Societies for Experimental Biology (FASEB) tahun 1988, Foresst Nielsen selaku pemimpin

dalam pertemuan tersebut mendiskusikan bahwa perlu dilakukan pembaharuan pada pedoman modifikasi standar diet yang ada dengan lebih mempertimbangkan zat gizi. Sehingga terbentuklah standar diet AIN-93 G dan AIN-93 M. AIN-93 G direkomendasikan untuk tikus yang sedang ada pada masa pertumbuhan, hamil, dan menyusui. Sedangkan standar AIN-93 M direkomendasikan untuk tikus yang sedang tidak berada pada kondisi tertentu (Reeves *et al.*, 1993).

2.4.1 Diet Normal Standar AIN-93M

Dalam pembuatan diet normal standar AIN-93M, minyak kedelai dianjurkan digunakan sebagai sumber lemak karena mengandung lemak yang sesuai dengan kebutuhan yaitu sebesar 14% asam lemak jenuh, 23% asam lemak tak jenuh rantai tunggal, 51% asam linoleic dan 7% asam linolenic. Berikut komposisi diet normal standard AIN-93M dalam 1 kg resep tercantum pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Komposisi AIN-93M

Komposisi	g/kg diet
Pati Jagung	465,692
Kasein (>85% protein)	140
Pati jagung <i>dextrinized</i> (90-94% tetrasakarida)	155
Sukrosa	100
Minyak kedelai murni	40
Serat	50
Mineral Mix	35
Vitamin Mix	10
L-cystine	1,8
Koline bitatrate	2,5
TBHQ	0,008

(Reeves *et al.*,1993)

2.5 Diet HFHF

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan terjadinya obesitas. Lemak berlebih yang diasup menyebabkan perbesaran dan peningkatan jaringan lemak tubuh. Konsumsi tinggi lemak juga akan menyebabkan terjadinya peningkatan berat badan yang berujung pada terjadinya obesitas. Hal ini memicu terjadinya proses inflamasi yang dapat meningkatkan lipolisis dan menurunkan penyimpanan trigliserida pada jaringan otot (Guilherme *et al.*, 2008).

Selain diet tinggi lemak, diet tinggi fruktosa juga dapat menyebabkan terjadinya obesitas. Fruktosa merupakan gula sederhana yang memberikan

rasa manis dan terdapat pada makanan alami seperti buah-buahan, madu, sayuran, dan biji-bijian. Namun saat ini fruktosa banyak digunakan sebagai pemanis oleh industri makanan dan minuman seperti soft drink dalam bentuk *high fructose corn syrup* (HFCS). Namun berbagai penelitian menunjukkan bahwa peningkatan pada konsumsi makanan dan minuman yang mengandung HFCS berpengaruh terhadap peningkatan gejala sindrom metabolik seperti dislipidemia, obesitas sentral, dan DM tipe 2 (Bantle, 2009).

2.5.1 Hubungan Pemberian Diet HFHF terhadap Jumlah Sel Beta dan Gambaran Histopatologi Pulau Langerhans Pankreas

Fruktosa sangat efisien dalam menginduksi *de novo* lipogenesis (DNL) dengan menyediakan atom karbon untuk gliserol dan asil-koA mensintesis trigliserida dan meningkatkan penimbunan lemak pada hepar sehingga terjadi penurunan sensitivitas insulin. Penelitian terhadap hewan coba menunjukkan bahwa asupan tinggi fruktosa berpengaruh terhadap kegagalan toleransi glukosa, resistensi insulin, dan hiperinsulinemia (Prahastuti, 2011).

Konsumsi hiperenergenik fruktosa juga menghasilkan peningkatan yang signifikan pada glukosa plasma saat puasa, produksi glukosa oleh hepar, dan hepatik insulin resisten. Pada rodensia, diet sukrosa dan fruktosa yang tinggi memiliki hubungan erat dengan obesitas, diabetes mellitus, dislipidemia, dan tekanan darah tinggi dan resistensi insulin (Lê *et al.*, 2006).

Mutiyani *et al.*, (2014) melakukan penelitian dengan memberikan diet tinggi lemak (*High Fat Diet*, HFD) pada hewan coba dan menunjukkan bahwa pemberian HFD dapat meningkatkan berat badan tikus dan menyebabkan penurunan kepadatan pada sel beta pankreas. Selain itu pada

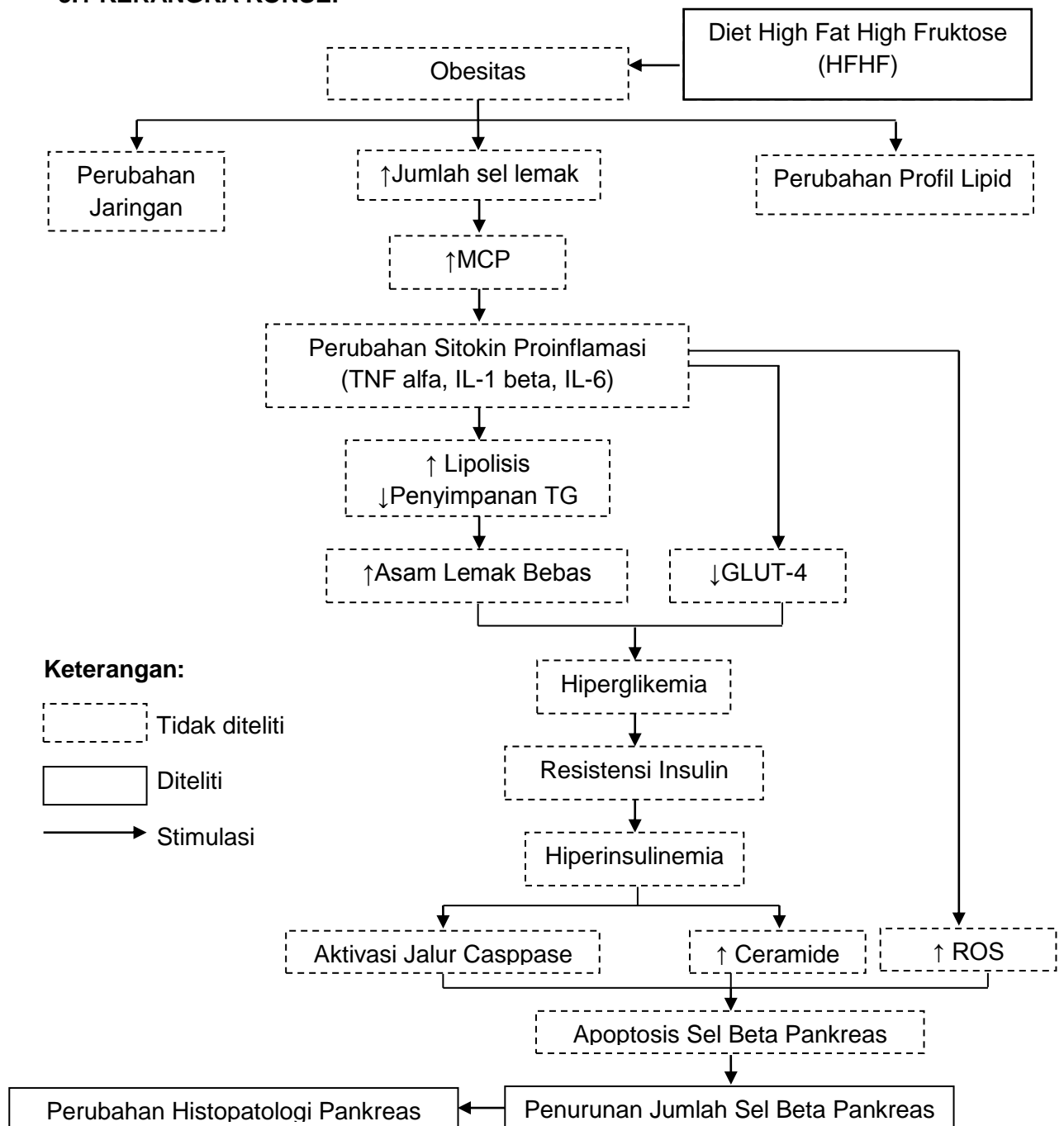
penelitian yang dilakukan Luhu (2015) pemberian diet tinggi fruktosa (*High Fructose*, HF) juga dapat menyebabkan peningkatan berat badan dan peningkatan lipolisis. Sehingga pemberian HFD dan HF keduanya dapat dikombinasikan untuk menghasilkan kondisi obesitas pada tikus yang selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya diabetes mellitus.

Pemberian HFD dan HF jika dikombinasikan menjadi HFHF dapat menyebabkan terjadinya peningkatan berat badan tikus. Pada penelitian yang pernah dilakukan pemberian diet HFHF selama 2 bulan dapat menyebabkan peningkatan berat badan pada tikus, selain itu juga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ROS dan resistensi insulin (Lozano *et al.*, 2016). Peningkatan ROS dan resistensi insulin selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas sehingga terjadi perubahan pada jumlah sel beta dan kerapatan pulau Langerhans (Leonardi *et al.*, 2003).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 KERANGKA KONSEP



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 PENJELASAN KERANGKA KONSEP

Pemberian diet HFHF akan menyebabkan terjadinya obesitas. Pada penderita obesitas akan terjadi perubahan jaringan, perubahan profil lipid, dan perubahan sel lemak. Obesitas dapat menyebabkan perbesaran dan peningkatan jumlah sel lemak yang dibarengi dengan sekresi MCP-1 dalam jumlah berlebih. *Monocyte Chemoattractant Protein-1* merupakan suatu peptida yang disekresikan oleh adiposit dan berfungsi untuk mengatur metabolisme trigliserida dan asam lemak di dalam adiposit. Sekresi MCP-1 dalam jumlah berlebih disebut dengan kondisi proinflamasi dan memicu infiltrasi makrofag ke dalam adiposit. Makrofag akan mensekresikan TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 sebagai respon dari inflamasi. Inflamasi akan mengakibatkan disfungsi adiposit yang berlanjut pada peningkatan lipolisis dan menurunnya penyimpanan trigliserida pada jaringan otot. Peningkatan lipolisis dan penurunan penyimpanan trigliserida menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas dan trigliserida dalam darah (Guilherme *et al*, 2008).

Peningkatan konsentrasi asam lemak bebas dan adanya penurunan pada GLUT 4 dapat mengganggu proses masuknya glukosa ke sel sehingga terjadi hiperglikemi. Untuk merespon keadaan hiperglikemi sel beta memproduksi insulin dalam jumlah banyak sehingga terjadi resistensi insulin dan hiperinsulinemia. Kegagalan sel beta dalam merespon kadar glukosa darah yang tinggi akan menyebabkan abnormalitas jalur transduksi sinyal insulin sel beta dan terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin pada sel beta pankreas akan menyebabkan aktivasi jalur caspase dan peningkatan kadar ceramide yang selanjutnya akan menginduksi apoptosis pada sel beta. Apoptosis yang terjadi pada sel beta selanjutnya diikuti dengan berkurangnya

masa sel beta pada pankreas sehingga terjadi perubahan histopatologi pankreas terutama pada gambaran pulau Langerhans.

3.3 HIPOTESIS PENELITIAN

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

- 3.3.1 Terdapat perbedaan jumlah sel beta pankreas antara yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan yang diberi diet normal Modifikasi AIN-93M, yaitu jumlah sel beta pada diet HFHF lebih rendah dibandingkan dengan diet normal.
- 3.3.2 Terdapat perbedaan bentuk pulau langerhans dan perbedaan kepadatan sel pulau langerhans antara yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M, yaitu kerapatan sel pulau Langerhans pada diet HFHF lebih rendah dibandingkan dengan diet normal dan bentuk tidak beraturan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian murni (*true experimental laboratory*) dengan hanya melihat perbedaan di akhir penelitian (*post test with control group design*). Dengan desain rancangan penelitian ini memungkinkan peneliti untuk membandingkan antar kelompok atau mengukur perubahan akibat dari suatu perlakuan (Notoatmojo, 2002 dalam Mahlianoor 2009).

4.2 Populasi Dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua tikus putih SD jantan yang didapatkan dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM. Pada penelitian ini digunakan tikus *Sprague Dawley* (SD) jantan karena tikus ini lebih jelas dalam menunjukkan tanda-tanda (marker) obesitas.

4.2.2 Kriteria Sampel

Hewan coba tikus SD yang digunakan pada penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Berikut ini adalah kriteria tikus yang digunakan pada penelitian ini.

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

- Umur \pm 3 bulan.
- Berat 200 – 250 gram.
- Warna bulu putih bersih.
- Tikus sehat dengan anggota badan lengkap dan mata jernih

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

- Tikus cacat.
- Tikus yang tampak tidak aktif.

4.2.2.3 Kriteria Drop Out

- Tikus mati pada saat penelitian.

4.2.3 Estimasi Besar Sampel

Dalam penelitian ini digunakan dua kelompok perlakuan. Estimasi jumlah sampel yang digunakan pada masing-masing kelompok dihitung menggunakan rumus Frederer.

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (2-1) \geq 15$$

$$(n-1) 1 \geq 15$$

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

$$\text{Cadangan} = 10\% \times n$$

$$= 10\% \times 16$$

$$= 1,6 \sim 2 \text{ (pembulatan)}$$

$$\text{Total Sampel} = 16 + 2 = 18$$

Dengan n = jumlah sampel yang diperlukan

t = jumlah kelompok perlakuan

Dari hasil perhitungan, didapatkan jumlah sampel tiap kelompok adalah 18 ekor dan sudah ditambahkan sampel cadangan pada setiap kelompok sebanyak dua ekor tikus untuk mengantisipasi adanya kemungkinan drop out. Sehingga jumlah sampel keseluruhan yang dibutuhkan dalam penelitian ini sejumlah 36 ekor tikus.

4.2.4 Kelompok Penelitian

Dalam penelitian ini, sampel dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan yaitu:

Kelompok N : untuk perlakuan diet normal standar AIN-93M.

Kelompok L : untuk perlakuan diet HFHF modifikasi standar AIN-93M.

4.2.5 Prosedur Randomisasi Sampel

Randomisasi sampel sebanyak 36 ekor dilakukan dengan teknik *simple random sampling* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) untuk menentukan kelompok normal dan lemak, lalu menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) untuk mengelompokkan sampel menurut berat badan disetiap kelompok perlakuan. Menggunakan RAL dikarenakan hewan coba, tempat percobaan, dan bahan penelitian yang digunakan homogen (Notoatmojo, 2005). Teknik yang digunakan untuk memilih sampel dari populasi dengan cara sedemikian rupa sehingga setiap anggota dari populasi mempunyai peluang yang sama untuk nantinya terambil menjadi sampel.

Langkah pengacakan adalah dengan terlebih dahulu memberi tanda satu hingga enam strip pada ekor tikus secara acak. Lalu pada satu kandang diberi isi 6 ekor tikus dengan mengambil acak tikus berstrip satu hingga tikus berstrip enam. Begitu juga untuk 5 kandang lainnya. Lalu masing - masing kandang akan dibagi menjadi 2 untuk dijadikan kelompok L dan N. Untuk pengelompokkan di masing-masing perlakuan dikelompokkan berdasarkan berat badan tertinggi hingga berat badan terendah.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah diet HFHF modifikasi AIN-93M dan diet normal modifikasi AIN-93M.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah sel beta dan gambaran histopatologi pankreas terutama pada kerapatan dan bentuk pulau Langerhans hewan coba tikus jenis *sprague dawley* (SD) jantan.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan preparat, pewarnaan, dan pengamatan histopatologi pankreas dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembuatan diet HFHF modifikasi AIN-93M dan diet normal modifikasi AIN-93M dilakukan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Malang dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan yaitu dimulai dari bulan September 2017 hingga Februari 2018.

4.5 Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan

Berikut adalah bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini:

1. Bahan untuk perawatan hewan coba : sekam.
2. Bahan untuk pembuatan diet high fat high fruktose modifikasi AIN-93M : *Cornstarch, dextrinnise cornstarch, sucrose, soybean oil, casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix ain, *L-cystine, coline bitartrate*, BHQ dan fruktosa.
3. Bahan untuk pembuatan pakan diet normal AIN-93M : *Cornstarch, dextrinnise cornstarch, sucrose*, fruktosa, lard, *soybean oil, casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix ain, *L-cystine, coline bitartrate*, TBHQ.
4. Bahan untuk pengambilan organ : injeksi ketamin 0.3 ml dan formalin 10%.
5. Bahan pembuatan slide : jaringan pankreas tikus SD.
6. Bahan pengecatan jaringan pankreas : *harris hematoksillin*, alkohol asam 1%, amonium lithium karbonat, *eosin*, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol absolut, *xylol*.

4.5.2 Alat untuk Pemeliharaan Tikus :

Berikut adalah bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini :

1. Alat untuk perawatan hewan coba : kandang, botol minum, tempat makan, handscoen, masker, dan pembersih kandang (alat semprot).
2. Alat untuk pengambilan organ : penjepit (*block holder*), scapel, gunting, pinset, sarung tangan, tabung plastik untuk menyimpan organ sementara.
3. Alat untuk pengecatan jaringan pankreas : gelas slide, mikroskop Olympus, *Automatic tissue processor, Mikrotom rotate*, kuas, bak pengecatan, alat cetak.

4. Alat hygiene sanitasi : tempat cuci tangan, sarung tangan, jas laboratorium, masker, alkohol, *cotton ball*.

4.6 Definisi Istilah/Operasional

Variabel	Definisi	Cara Mengukur	Hasil	Skala Data
Diet HFHF Modifikasi AIN-93M	Merupakan pakan modifikasi AIN-93M dengan komposisi <i>cornstarch</i> , <i>dextrinnise cornstarch</i> , <i>sucrose</i> , fruktosa, lard, <i>soybean oil</i> , <i>casein</i> , tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix ain, <i>I-cystine</i> , <i>coline bitartrate</i> , TBHQ. Pakan HFHF ini mengandung 29.39% karbohidrat, 51.64% lemak, dan 21.81% protein (Kusumastuty, 2017).	Penimbangan	Makanan: gram (g) Minuman: mililiter (ml)	Nominal
Diet Normal Modifikasi AIN 93-M	Merupakan pakan modifikasi AIN-93M dengan komposisi <i>cornstarch</i> , <i>dextrinnise cornstarch</i> , <i>sucrose</i> , <i>soybean oil</i> , <i>casein</i> , tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix ain, <i>I-cystine</i> , <i>coline bitartrate</i> , TBHQ. Pakan normal	Penimbangan	Gram (g)	Nominal

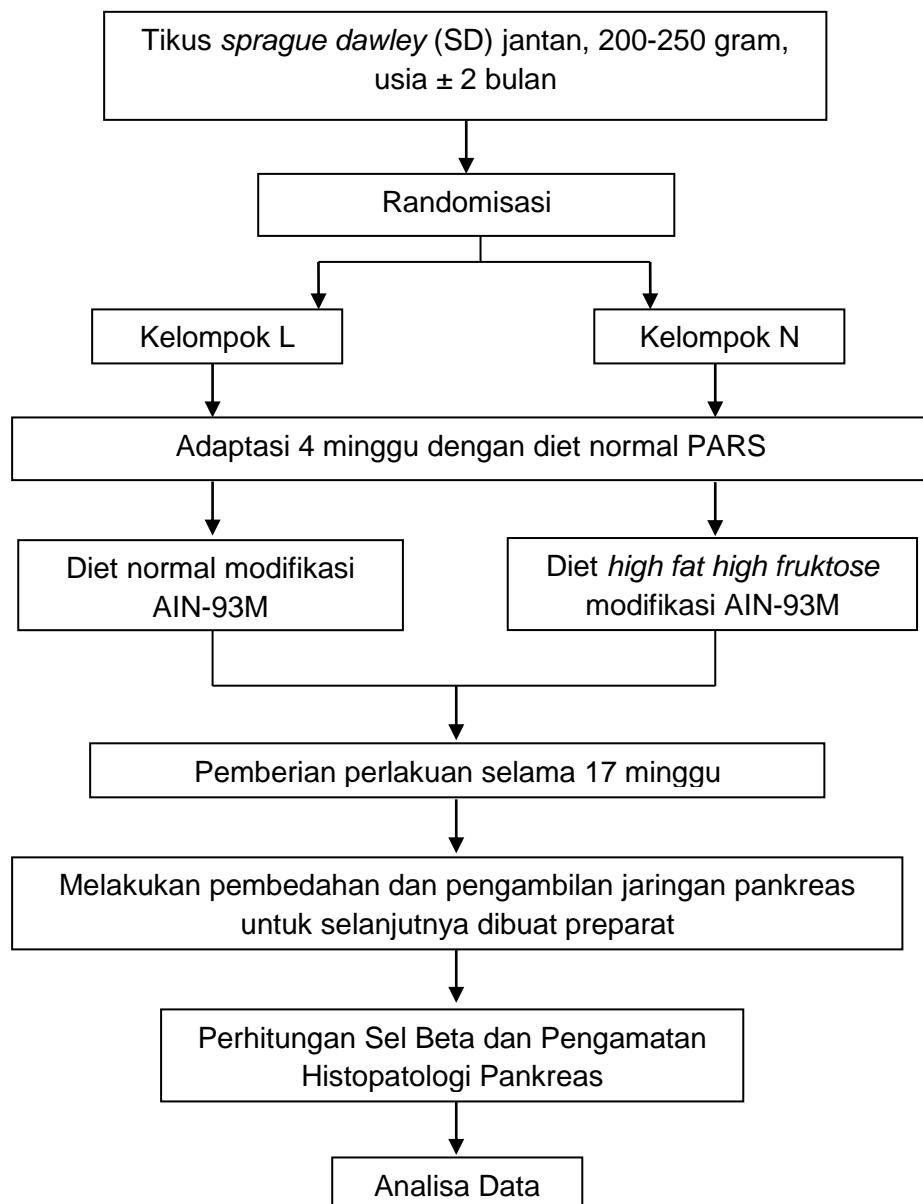
	ini mengandung 42.87% karbohidrat, 25.81% lemak, dan 31.32% protein (Kusumastuty, 2017).			
Jumlah Sel Beta	Perhitungan sel beta diawali dengan melakukan pembedahan dan pembuatan slide atau preparat jaringan pankreas tikus, yang kemudian dilakukan pengecatan sel. Setelah itu dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Kemudian hasil foto scan perbesaran 400x dan diambil 5 lapang pandang. Kemudian akan dilakukan perhitungan sel beta secara manual. Setelah itu hasil dinyatakan dalam bentuk rata-rata jumlah sel beta.	Perhitungan dengan cel counter		Rasio

Histopatologi Pankreas	Histopatologi merupakan ilmu biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi dari jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Pengamatan pada histopatologi pankreas adalah mengamati kondisi dari jaringan pankreas melalui hasil pengamatan yang diawali dengan melakukan pembedahan dan pewarnaan HE. Setelah itu dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Kemudian hasil foto scan perbesaran 400x dan diambil 5 lapang pandang.	Pengamatan menggunakan mikroskop perbesaran 400x		Deskriptif
---------------------------	--	--	--	------------

4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

4.7.1 Langkah – Langkah Penelitian

Langkah – langkah dalam melakukan penelitian ini adalah :



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7.2 Perlakuan pada Hewan Coba

1. Di awal penelitian sampel tikus dipilih menggunakan teknik *simple random sampling* kemudian dilakukan pengacakan dengan rancangan acak lengkap (RAL) dan rancangan acak kelompok (RAK). Tikus dibagi menjadi dua kelompok dengan jumlah 18 ekor pada setiap kelompoknya.
2. Masing – masing tikus kemudian ditimbang dan ditempatkan di dalam kandang terpisah (setiap kandang berisi satu ekor tikus). Kandang diberi sekam dan diganti setiap 3 hari sekali.
3. Tikus diadaptasi selama 1 bulan di dalam laboratorium dengan tujuan agar tikus dapat beradaptasi.
4. Selama masa adaptasi tikus sudah dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok L dan N. Selama masa adaptasi kedua kelompok diberi pakan normal PARS secara peroral dengan jumlah 30 gram/hari dan minuman diberikan secara peroral melalui botol minum tikus.
5. Setelah melalui masa adaptasi, tikus diberikan diet sesuai dengan kelompoknya. Kelompok L diberikan diet HFHF modifikasi AIN-93M \pm 30 gram untuk makanan dan diberi minuman fruktosa sedangkan kelompok N diberikan diet normal modifikasi AIN-93M \pm 30 gram dengan minuman air biasa.
6. Perlakuan diberikan selama 17 minggu.
7. Asupan makanan tikus diukur dengan menimbang jumlah total makanan (g) yang diberikan ke tikus kemudian dikurangi dengan sisa makanan (g) pada saat penimbangan sisa makanan. Untuk perhitungan minuman fruktosa dilakukan dengan mengukur jumlah fruktosa (ml) yang

diberikan di botol minum tikus kemudian dikurangi dengan sisa fruktosa (ml) pada saat pengukuran sisa minum.

8. Perhitungan asupan pakan dan minuman (fruktosa) dilakukan setiap dua hari sekali untuk mengetahui banyaknya pakan yang dikonsumsi tikus.
9. Pada akhir penelitian tikus dibedah kemudian diambil jaringan pankreas untuk kemudian dihitung jumlah sel beta dan diamati histopatologi dari jaringan pankreas tersebut.

4.7.3 Pembuatan Pakan HFHF dan Diet Normal

4.7.3.1 Pembuatan Pakan

Berikut adalah prosedur pembuatan pakan

1. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan.
2. Seluruh bahan ditimbang.
3. Seluruh bahan kering dicampurkan hingga merata menggunakan *doughmaker*.
4. Bahan cair dituangkan kedalam adonan kering dan ditambahkan air
5. Semua bahan diaduk hingga kalis.
6. Bahan dicetak agar mendapatkan bentuk yang seragam.
7. Adonan yang sudah dicetak dioven pada suhu 60 derajat celcius selama 10-12 jam.

4.7.3.2 Pembuatan Fruktosa 30%

Berikut adalah prosedur pembuatan fruktosa 30%

1. Menyiapkan alat-alat yang dibutuhkan.
2. Menimbang fruktosa sebanyak 75 gram, kemudian dilarutkan dalam 150 ml air pada *baker glass*.

3. *Bekker glass* yang berisi larutan fruktosa diletakkan pada *stirrer* selama beberapa menit hingga larutan homogen.
4. Larutan fruktosa dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan air menggunakan pipet tetes hingga mencapai batas miniskus bawah labu ukur. Pastikan bahwa air yang ditambahkan tidak melebihi batas.
5. Labu ukur ditutup, lalu membolak-balikkan labu ukur hingga tercampur rata.
6. Prosedur di atas diulangi hingga didapatkan 8 liter larutan fruktosa
7. Larutan yang sudah jadi dimasukkan ke dalam jerigen yang telah bersih dan ditambahkan 3 tetes pewarna makanan.

4.7.4 Pemberian Diet HFHF dan Diet Normal

Pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M dan diet normal dilakukan setiap dua hari. Kebutuhan makanan tikus dewasa per ekor diberikan masing-masing 60 gram untuk tikus yang diberi diet HFHF ditambahkan pemberian minum fruktosa 30%. Baik diet HFHF maupun diet normal diberikan selama 17 minggu pada kelompok L dan N.

4.7.5 Pembuatan Slide Histologi

4.7.5.1 Proses Pemotongan Jaringan Berupa Makros

1. Jaringan atau spesimen penelitian harus sudah terfiksasi dengan formalin 10% atau dengan bafer formalin minimal selama 7 jam sebelum dilakukan proses pengerjaan berikutnya.
2. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang diteliti.
3. Jaringan dipotong kurang lebih ketebalan 2-3 milimeter.

4. Dimasukkan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross penelitian.
5. Jaringan kemudian diproses dengan alat *Automatic Tissue Tex Prosesor* selama 90 menit.
6. Ketika alarm pada alat *Automatic Tissue Tex Prosesor* sudah berbunyi tanda proses sudah selesai.

4.7.5.2 Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

1. Jaringan diangkat dari mesin *Tissue Tex Prosesor*.
2. Jaringan diblok dengan parafin sesuai kode jaringan.
3. Jaringan dipotong dengan alat *microtome* dengan ketebalan 3-5 mikron.

4.7.5.3 Proses Deparafinisasi

1. Jaringan yang telah dipotong dengan ketebalan 3-5 mikron diletakkan di dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80° C.
2. Dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing tempat 20 menit.
3. Dimasukkan ke dalam 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (hidrasi).
4. Dimasukkan ke dalam air mengalir selama 15 menit.

4.7.6 Pengecetan Jaringan Pankreas

4.7.6.1 Proses Pewarnaan dengan Hemaktosillin – Eosin

1. Jaringan di cat dengan cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit.
2. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
3. Jaringan dicelupkan 2-5 kali pada alkohol asam.

4. Jaringan dicelupkan 3-5 kali pada amonium air.
5. Jaringan di cat pembeding dengan Eosin 1% selama 10-15 menit.

4.7.6.2 Proses Dehidrasi

1. Alkohol 70% selama 3 menit.
2. Alkohol 80% selama 3 menit.
3. Alkohol 96% selama 3 menit.
4. Alkohol absolut selama 3 menit.

4.7.6.3 Penjernihan (*Clearring*)

1. Dicelupkan pada xylol selama 15 menit.
2. Dicelupkan pada xylol selama 15 menit.

4.7.6.4 *Mounting*

1. Object glass ditutup menggunakan *cover glass*.
2. Slide dibiarkan pada suhu ruangan.
3. Setelah slide kering dilakukan foto scan kemudian diamati.

(Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017)

4.7.7 Perhitungan Sel Beta dan Pembacaan Histopatologi Pankreas

1. Preparat histologi jaringan pankreas diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.
2. Pengambilan gambaran histologi dengan menggunakan scan. Kriteria kerusakan berupa perubahan struktural dan degenerasi sel (Jones *et al*, 2010).
3. Hasil foto scan perbesaran 400x dan diambil 5 lapang pandang. Kemudian akan dilakukan perhitungan sel beta menggunakan

software cell counter. Setelah itu hasil dinyatakan dalam bentuk rata-rata jumlah sel beta.

4.7.8 Pengumpulan Data

- a. Data asupan diperoleh dengan mengurangi hasil penimbangan berat pakan yang diberikan kepada tikus dengan hasil penimbangan sisa makanan dan pengukuran sisa minuman fruktosa yang diberikan setelah 24 jam pemberian. Kemudian dikonversikan menjadi energi dalam kkal, protein dalam gram, lemak dalam gram, dan karbohidrat dalam gram.
- b. Data rata-rata asupan energi diperoleh melalui pembagian jumlah keseluruhan asupan dengan jumlah tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan.
- c. Hasil penelitian histopatologi pankreas dan jumlah sel beta tiap perlakuan didapatkan setelah proses pembedahan tikus.

4.8 Analisis Data

Hasil perhitungan jumlah sel beta pankreas dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan program SPSS 20.0 for Windows 7 dengan melakukan uji normalitas. Data yang terdistribusi normal yaitu berat badan saat perlakuan, analisis energi, lemak, dan sel beta diuji menggunakan *Independent T-Test* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p=0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Sedangkan data yang tidak terdistribusi normal yaitu berat badan tikus datang, analisis asupan, karbohidrat, dan protein diuji menggunakan *Mann Whitney* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p=0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$).

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Tikus Penelitian

Karakteristik tikus penelitian pada masing-masing kelompok perlakuan meliputi jumlah tikus, jenis kelamin, usia, berat badan tikus awal datang (gram) disajikan pada Tabel 5.1

Tabel 5.1 Karakteristik Tikus Penelitian

Karakteristik	N	L
Jumlah Sampel (n)	14	16
Jenis Kelamin	Jantan	Jantan
Usia (Minggu)	12	12
BB Awal Datang (gram)	244.19 ± 33.08	240.24 ± 30.72

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M , L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M

Berdasarkan Tabel 5.1 dapat diketahui bahwa seluruh kelompok perlakuan sudah sesuai dengan kriteria inklusi yang telah ditetapkan. Jumlah sampel awal adalah 18 ekor tikus pada masing-masing kelompok percobaan, namun pada saat penelitian 2 ekor tikus pada kelompok lemak dan 4 ekor tikus pada kelompok normal mengalami *drop out* karena mati, sehingga jumlah sampel akhir pada kelompok normal adalah 14 ekor dan pada kelompok lemak 16 ekor.

Data berat badan awal tikus tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan uji statistik dengan *Mann-Whitney*. Hasil uji statistik menunjukkan

bahwa berat badan awal kelompok L tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok N, ditunjukkan dengan nilai $p = 0.627$.

5.2 Kandungan Zat Gizi yang Diberikan pada Tikus Penelitian

Kandungan gizi pada diet yang diberikan pada tikus penelitian kelompok L dan N yang disajikan dalam bentuk energi (kkal), karbohidrat (g), protein (g), dan lemak (g) disajikan pada Tabel 5.2 dan Tabel 5.3

Tabel 5.2 Kandungan Zat Gizi dalam 100 gram Pakan Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M

Kandungan Zat Gizi	N	L
Energi (kkal)	421	508
Karbohidrat (gram)	45.12	37.33
Protein (gram)	32.96	27.70
Lemak (gram)	12.07	29.15
Densitas Energi (kkal/gram)	4.21	5.08

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M , L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M

Tabel 5.3 Kandungan Zat Gizi dalam 100 ml Fruktosa 30%

Kandungan Zat Gizi	N	L
Energi (kkal)	-	120
Karbohidrat (gram)	-	30

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M , L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M

Pada masa adaptasi semua tikus penelitian diberi diet PARS, kemudian setelah masa adaptasi selama 4 minggu selesai, kelompok N diberikan diet Normal modifikasi AIN-93M sedangkan kelompok L diberikan diet HFHF modifikasi AIN-93M. Selain diberikan diet HFHF modifikasi AIN-

93M pada kelompok L juga diberikan minuman fruktosa, sedangkan pada kelompok N hanya diberikan air biasa.

Berdasarkan hasil uji proksimat diet HFHF modifikasi AIN-93M dan diet normal modifikasi AIN-93M yang tercantum pada tabel 5.2 dan tabel 5.3, terdapat perbedaan kandungan zat gizi dan densitas energi pada kedua diet. Densitas energi pada diet normal modifikasi AIN-93M sebesar 4.21 kkal/gram, sedangkan pada diet HFHF modifikasi AIN-93M sebesar 5.08 kkal/gram. Perbedaan tersebut disebabkan oleh perbedaan komposisi zat makro pada kedua diet, diet HFHF modifikasi AIN-93M mengandung lemak lebih tinggi dibandingkan dengan diet normal modifikasi AIN-93M yaitu sebesar 51.64% dari total energi.

5.3 Asupan Pakan dan Zat Gizi pada Tikus Penelitian

Asupan pakan yang dikonsumsi tikus merupakan rata-rata makanan yang dimakan oleh tikus dan dihitung berdasarkan selisih antara jumlah pakan yang diberikan dengan jumlah sisa pakan yang ada pada kandang. Selain dari sisa makanan, pada kelompok L asupan tikus juga dihitung berdasarkan banyaknya minuman fruktosa yang dikonsumsi dan dihitung berdasarkan selisih antara banyaknya minuman yang diberikan dengan sisa minuman yang ada pada botol.

Kandungan zat gizi dihitung berdasarkan data jumlah asupan yang dikonversikan ke dalam satuan energi, karbohidrat, protein, dan lemak pada masing – masing kelompok perlakuan dalam satuan kkal untuk energi dan gram untuk karbohidrat, protein, dan lemak. Rata – rata asupan energi, karbohidrat, protein, dan lemak untuk masing-masing kelompok perlakuan perhari disajikan dalam Tabel 5.4, Tabel 5.5, dan Tabel 5.6

Tabel 5.4 Rata-Rata Energi Intake Pakan Tikus didasarkan pada Nilai Gizi Karbohidrat, Protein, dan Lemak Selama Perlakuan dengan Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M

Rata-Rata Asupan	N	L	p value *)
Asupan Pakan (gram)	12.02 ± 1.63	6.31 ± 1.12	0.000*
Karbohidrat Pakan (gram)	5.42 ± 0.73	2.36 ± 0.42	
Protein (gram)	3.96 ± 0.54	1.75 ± 0.31	0.000*
Lemak (gram)	1.45 ± 0.20	1.84 ± 0.33	0.001
Energi Pakan (kkal)	50.60 ± 6.86	32.07 ± 5.70	

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M, L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M, p value *) = angka signifikansi ($p < 0.05$), *diuji menggunakan *Mann-Whitney*

Tabel 5.5 Rata-Rata Energi Intake Minuman Tikus di Dasarkan pada Nilai Gizi Karbohidrat Selama Perlakuan dengan Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M

Rata-Rata Asupan	N	L	p value *)
Asupan fruktosa (ml)	-	29.74 ± 3.88	-
Energi Minuman (kkal)	-	35.68 ± 4.66	-
Karbohidrat Minuman (gram)	-	8.92 ± 1.17	-

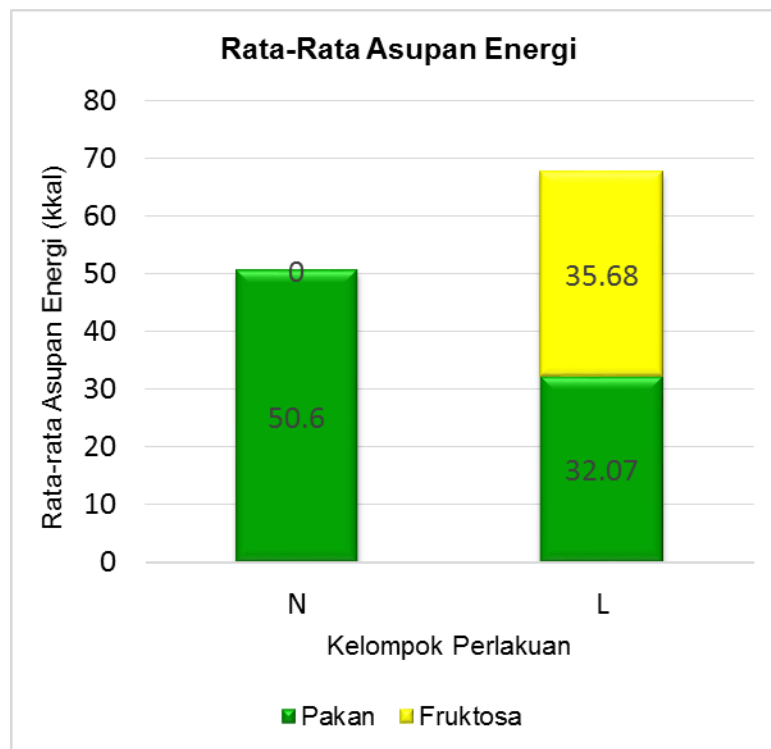
Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M, L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M, p value *) = angka signifikansi ($p < 0.05$)

**Tabel 5.6 Rata-Rata Asupan Energi Total Makanan dan Minuman Tikus di
Dasarkan pada Nilai Gizi Karbohidrat, Protein, dan Lemak Selama
Perlakuan dengan Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal
Modifikasi AIN-93M**

Rata-Rata Asupan	N	L	p value *)
Karbohidrat Total (gram)	5.42 ± 0.73	11.28 ± 1.13	0.000*
Protein (gram)	3.96 ± 0.54	1.75 ± 0.31	0.000*
Lemak (gram)	1.45 ± 0.20	1.84 ± 0.33	0.001
Energi Total (kkal)	50.60 ± 6.86	67.76 ± 6.39	0.000

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M, L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M, p value *) = angka signifikansi ($p < 0.05$), *diuji menggunakan *Mann-Whitney*

Berdasarkan tabel 5.4 dapat dilihat bahwa rata-rata asupan pakan tikus kelompok N lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok L yaitu N = 12.02 ± 1.63 gram dan L = 6.31 ± 1.12 gram. Pada kelompok L mendapat tambahan energi dari minuman fruktosa adalah sebesar 35.68 ± 4.66 kkal untuk energi dan sebesar 8.92 ± 1.17 gram untuk karbohidrat seperti yang disajikan pada Tabel 5.5. Namun untuk rata-rata asupan energi total, karbohidrat total, dan lemak pada tikus kelompok L lebih tinggi yaitu 67.76 ± 6.39 kkal sedangkan pada kelompok N hanya 50.60 ± 6.86 kkal untuk energi. Data ini dapat dilihat pada Tabel 5.6. Untuk gambaran asupan tikus lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 5.1.



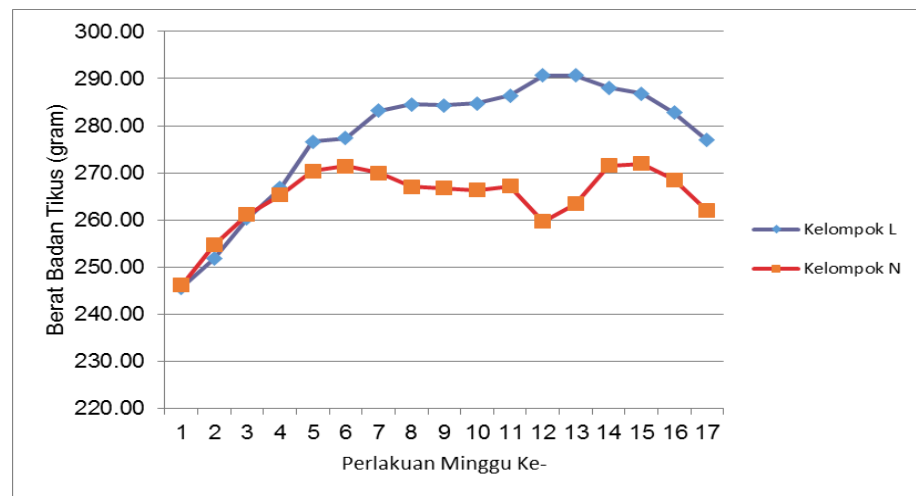
Gambar 5.1 Rata – Rata Asupan Energi Tikus

Keterangan: Energi didapatkan dari asupan pakan (hijau) dan minuman fruktosa (kuning)

Hasil analisis statistika menggunakan uji beda *Independent T test* dan *Mann Whitney* diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada rata – rata asupan, energi, karbohidrat, protein, dan lemak antara kelompok yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M. Hal ini dapat dilihat dari nilai $p = 0.000$ untuk rata-rata asupan, $p = 0.000$ untuk energi, $p = 0.000$ untuk karbohidrat, $p = 0.000$ untuk protein, dan $p = 0.001$ untuk lemak.

5.4 Perubahan Berat Badan dan Berat Badan Akhir Tikus

Penimbangan berat badan tikus dilakukan secara bertahap setiap 7 hari (1 minggu) sekali selama 17 minggu. Tren berat badan tikus selama 17 minggu perlakuan dapat dilihat pada gambar 5.2



Gambar 5.2 Tren Berat Badan Tikus

Keterangan: Tren perkembangan berat badan tikus selama 17 minggu perlakuan pada kelompok N (merah) dan kelompok L (biru)

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa selama penelitian pada kedua kelompok perlakuan mengalami kenaikan dan penurunan berat badan. Namun jika dibandingkan antara kelompok L dan N, berat badan tikus L berada diatas berat badan tikus N. Untuk hasil perhitungan rata-rata berat badan tiap kelompok disajikan dalam Tabel 5.7

Tabel 5.7 Rata-Rata Berat Badan Tikus Selama Perlakuan dengan Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M

Kelompok	N	L	p value *)
Berat Badan Datang (gram) (Sebelum Aklimatisasi)	244.19 ± 33.08	240.24 ± 30.72	0.627*
Berat Badan Awal (gram) (Setelah Aklimatisasi)	246.11 ± 19.11	245.58 ± 22.06	0.945
Berat Badan Akhir (gram)	261.93 ± 29.30	276.92 ± 35.65	0.223
Kenaikan Berat Badan (%)	6.48%	13.05%	-

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M, L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M, p value *) = angka signifikansi ($p < 0.05$), *diuji menggunakan *Mann-Whitney*

Dari tabel 5.7 dapat dilihat bahwa kedua kelompok perlakuan mengalami kenaikan berat badan. Rata-rata berat badan akhir tikus kelompok L memiliki rata-rata berat badan lebih tinggi yaitu 276.92 ± 35.65 gram sedangkan pada kelompok N sebesar 261.93 ± 29.30 gram. Dari hasil uji statistik dengan Mann Whitney pada berat badan tikus datang tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0.627$. Sedangkan dari hasil uji *Independent T test* pada berat badan awal tikus dan berat badan akhir tikus tidak ada perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan nilai $p = 0.945$ untuk berat badan awal dan $p = 0.223$ untuk berat badan akhir.

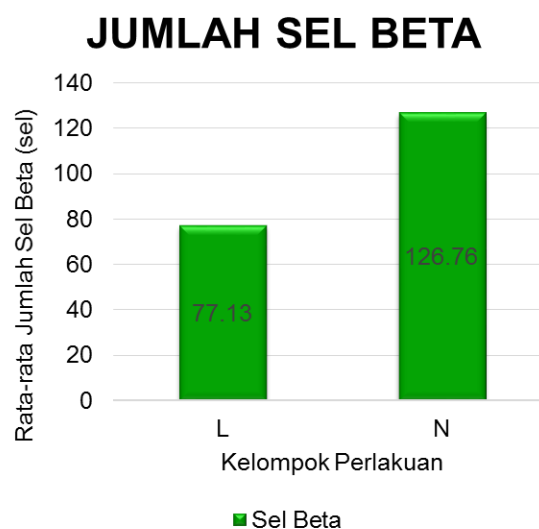
5.5 Jumlah Sel Beta pada Tikus Penelitian Sprague Dawley

Pemeriksaan jumlah sel beta pada pulau Langerhans diawali dengan pembuatan sediaan histopatologi pankreas dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Sediaan histopatologi diamati dengan menggunakan dot scan OlyVIA dengan perbesaran 400 kali. Kemudian jumlah sel beta pankreas dihitung dengan menggunakan *cell counter* dengan pengulangan sebanyak 5 lapang pandang pada tiap-tiap sampel di masing-masing kelompok perlakuan. Jumlah sel untuk setiap sediaan didapatkan dari hasil rata-rata jumlah sel beta disetiap lapang pandang. Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel beta disajikan dalam tabel 5.8

Tabel 5.8 Rata-Rata Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus *Sprague Dawley* yang diberi Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M

Rata-Rata Jumlah Sel Beta	N	L	p value *)
Jumlah Sel Beta (sel)	126.76 ± 14.71	77.13 ± 14.54	0.000

Keterangan: N = Diet Normal Modifikasi AIN-93M, L = Diet HFHF Modifikasi AIN-93M, p value *) = angka signifikansi ($p < 0.05$)

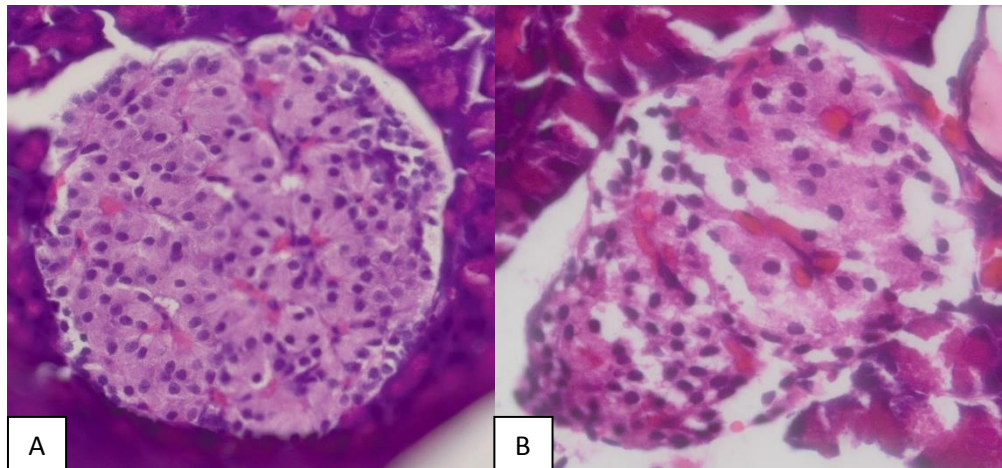


Gambar 5.3 Diagram Jumlah Sel Beta Pankreas

Dari data pada Tabel 5.8 dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah sel beta pada tikus kelompok L lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata jumlah sel beta pada kelompok N yaitu pada kelompok L = 77.13 ± 14.54 sel dan pada kelompok N = 126.76 ± 14.71 sel. Data rata-rata jumlah sel beta pada kedua kelompok terdistribusi normal ($p = 0.310$) sehingga selanjutnya dilakukan uji beda dengan menggunakan uji statistik *Independent T test*. Dari hasil uji tersebut diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah sel beta pada kelompok yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M dengan p -value 0.000. Perbedaan jumlah sel beta

antara tikus kelompok L dan N sebesar 38.67 sampai 60.59 memiliki nilai kepercayaan sebesar 95%. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada gambar 5.3.

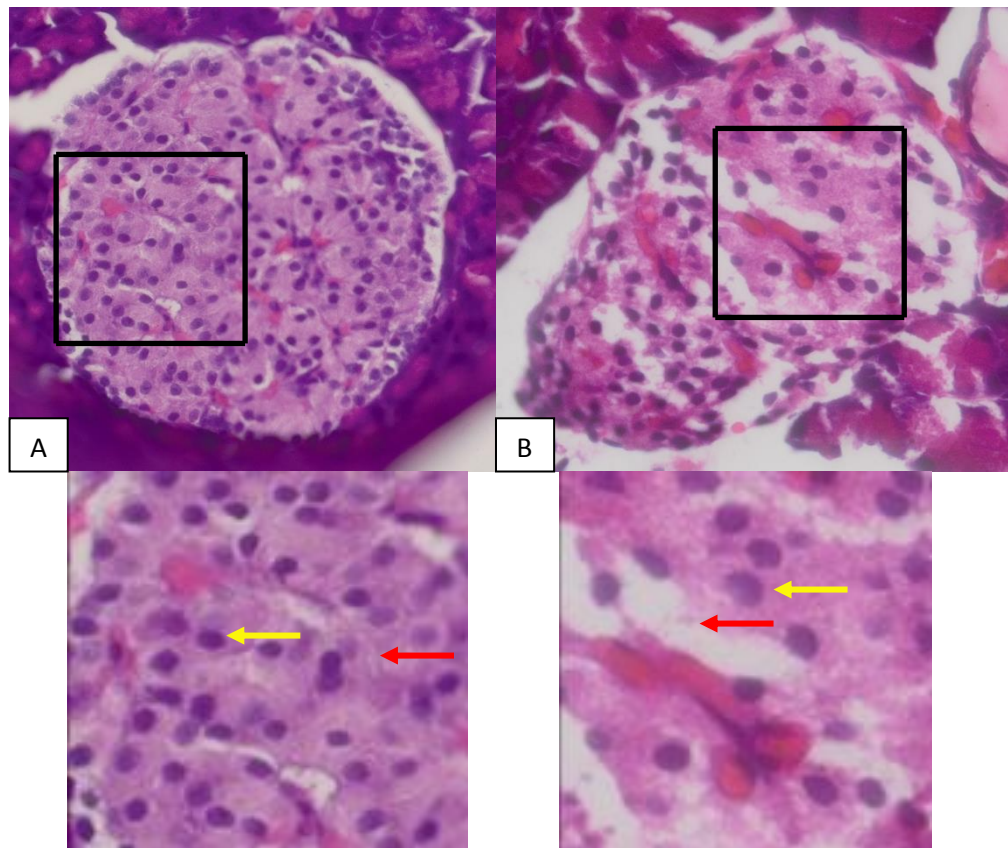
5.6 Gambaran Histopatologi Pankreas



Gambar 5.4 Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus

Keterangan: Gambaran histopatologi pankreas tikus kelompok N (A) dan kelompok L (B) dengan metode pewarnaan HE (Hemaktoxylin Eosin) dengan perbesaran 400x

Pada gambar 5.4 terlihat jika terdapat perbedaan gambaran histopatologi pankreas antara kelompok N dan kelompok L. Pada tikus kelompok N pulau Langerhans memiliki bentuk yang hampir bulat, sel beta terdistribusi merata di pulau Langerhans, dan pulau Langerhans terlihat penuh oleh sel. Sedangkan pada kelompok tikus L dengan diet HFHF mengalami kerusakan pulau Langerhans ditandai dengan perubahan bentuk pulau Langerhans menjadi tidak beraturan dan distribusi sel yang tidak merata terlihat dari banyaknya bagian pulau yang kosong. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada gambar 5.5.



Gambar 5.5 Bagian dari Gambaran Histopatologi Pankreas

Keterangan: Gambaran histopatologi pankreas tikus kelompok N (A) dan kelompok L (B) dengan metode pewarnaan HE (Hemaktoxylin Eosin). Panah kuning menunjukkan sel beta pankreas dan panah merah menunjukkan ruang kosong pada Pulau Langerhans.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Asupan Rata-Rata Zat Gizi pada Tikus yang Diberi Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M

Pada penelitian ini tikus dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok L dan kelompok N, perbedaan ada pada kandungan energi dan zat gizi yang diberikan pada diet kedua kelompok. Kelompok L merupakan kelompok tikus yang diberi diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan kelompok N merupakan kelompok tikus yang diberi diet normal modifikasi AIN-93M. Diet yang diberikan pada kelompok L memiliki kandungan energi dan lemak lebih tinggi dibandingkan dengan diet yang diberikan pada kelompok N, seperti yang ditampilkan pada tabel 5.2. Pada kelompok L selain diberi pakan juga diberikan minuman fruktosa yang setiap 100 ml menyumbang 120 kkal energi dan 30 gram karbohidrat, seperti ditampilkan pada tabel 5.3.

Berdasarkan hasil penelitian, rata-rata asupan pakan tikus antar kelompok perlakuan berbeda jumlahnya pada kelompok L sebesar 6.31 gram dan pada kelompok N sebesar 12.02 gram seperti yang ditampilkan pada tabel 5.4. Rata-rata asupan pakan pada kelompok L lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok N, dari hasil uji statistik terdapat perbedaan yang signifikan pada asupan pakan kedua kelompok. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ferreira (2011) yang menggunakan diet hiperkolesterol AIN-93M rata-rata asupan tikus sebesar 15.47 gram. Dengan demikian asupan tikus kelompok L pada penelitian lebih rendah dari seharusnya. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, baik dari keadaan tikus maupun faktor

makanan tikus. Faktor keadaan fisiologis tikus misalnya dikarenakan tikus mengalami kejenuhan selama mendapat diet maupun karena stress akibat kandang yang setiap dua hari sekali diangkat untuk menghitung asupan (Kusumastuty, 2014).

Pada penelitian Mayasari dan Rahayuni (2014) kelompok perlakuan yang diberi diet tinggi lemak memiliki asupan pakan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan tikus yang diberikan pakan normal yaitu pada kelompok diet lemak sebesar 17.94 gram dan pada diet normal 19.00 gram. Hal ini disebabkan kandungan lemak yang tinggi pada pakan menyebabkan tikus membutuhkan waktu pengosongan lambung yang lebih lama sehingga tikus menjadi cepat merasa kenyang dan asupan pakan tikus menjadi berkurang (Mayasari dan Rahayuni, 2014). Jika dilihat dari tekstur, bau, dan keadaan organoleptik pakan, hal ini juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi nafsu makan tikus. Tekstur yang kasar dan pakan yang tidak memiliki aroma atau beraroma tengik bisa menjadi faktor yang menyebabkan turunnya nafsu makan tikus (Sulistyowati, 2015).

Asupan pakan kelompok L lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok N, tetapi pakan yang diberikan kepada kelompok L mempunyai kandungan lemak yang tinggi dan mendapatkan asupan energi serta karbohidrat dari minuman yang diberikan. Sehingga meskipun asupan pakan tikus kelompok L lebih rendah, jika diakumulasikan dengan minuman fruktosa asupan energi tikus kelompok L jauh lebih tinggi dibandingkan dengan tikus kelompok N. Asupan energi total pada kelompok L dan kelompok N memiliki perbedaan yang signifikan yaitu pada kelompok L sebesar 67.76 kkal dan pada kelompok N sebesar 50.60 kkal seperti yang tercantum pada tabel 5.6.

Setelah pemberian diet selama 17 minggu kedua kelompok perlakuan mengalami peningkatan berat badan. Peningkatan lebih besar terjadi pada tikus kelompok L yaitu mencapai 276.92 gram dan pada kelompok N 261.93, namun perbedaan berat badan kedua kelompok tidak signifikan seperti terlihat pada tabel 5.7. Hal ini disebabkan oleh perbedaan densitas pakan yang tidak terlalu jauh antara kelompok N dan L yaitu pada kelompok N sebesar 4.21 kkal/gram dan pada kelompok L 5.08 kkal/gram sehingga energi yang diasup tidak berbeda jauh. Penelitian yang dilakukan Ploumidou *et al* (2010) juga menunjukkan tidak ada perbedaan berat badan yang signifikan antara tikus yang diberi diet tinggi lemak dengan yang diberi diet normal. Namun pada penelitian yang dilakukan Lozano *et al* (2016) terjadi peningkatan berat badan hingga mencapai 553 gram selama pemberian diet HFHF selama 2 bulan dan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok diet normal.

6.2 Pengaruh Pemberian Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M Terhadap Jumlah Sel Beta Pankreas

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus kelompok L dan pada tikus kelompok N. Berdasarkan perhitungan jumlah sel, tikus pada kelompok L memiliki jumlah sel beta pankreas yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok N yaitu pada kelompok L = 77.13 ± 14.54 sel dan pada kelompok N = 126.76 ± 14.71 sel data ini merujuk pada tabel 5.8. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan diet yang diberikan dan total asupan kedua kelompok, tikus kelompok L yang diberikan diet HFHF memiliki jumlah sel beta pankreas yang lebih sedikit karena sel beta telah mengalami apoptosis.

Sebelumnya belum ada penelitian mengenai pengaruh pemberian diet HFHF terhadap jumlah sel beta pankreas.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mutiyani *et al.*, (2014) dengan memberikan diet tinggi lemak (HFD) pada hewan coba menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan penurunan kepadatan sel beta pankreas. Tikus yang diberikan HFD memiliki kepadatan yang lebih rendah yaitu sebesar 57.98 mm² sedangkan pada diet normal memiliki kepadatan sebesar 86.95 mm². Nilai data penelitian ini tidak dapat dibandingkan dengan penelitian Mutiyani *et al.*, (2014) karena pada penelitian ini menghitung jumlah sel beta sedangkan pada penelitian tersebut menghitung kerapatan sel beta. Namun kerapatan sel beta dipengaruhi oleh jumlah sel beta, semakin banyak jumlah sel beta maka akan semakin besar nilai kerapatan sel beta.

Pada penelitian ini diberikan pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa selama 17 minggu, dimana konsumsi tinggi lemak dan tinggi fruktosa dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya obesitas dan terjadi peningkatan jumlah sel lemak. Hal ini dapat menyebabkan sekresi *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1) dalam jumlah berlebih atau disebut dengan kondisi proinflamasi. MCP-1 yang berlebih akan memicu sekresi TNF- α dan IL1 β sebagai respon inflamasi. Inflamasi akan mengakibatkan disfungsi adiposit yang berlanjut pada peningkatan lipolisis dan penurunan penyimpanan trigliserida, sehingga menyebabkan peningkatan asam lemak bebas dan trigliserida dalam darah (Guilherme *et al.*, 2008).

Akumulasi lemak pada tubuh dapat memicu terjadinya penurunan jumlah sel beta akibat adanya apoptosis. Seperti pada penelitian ini terlihat

bahwa pada tikus kelompok L memiliki jumlah sel beta yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok N. Hal ini berkaitan dengan pemberian diet tinggi lemak yang dapat memicu terjadinya peningkatan asam lemak bebas. Terakumulasinya asam lemak bebas di jaringan akan menginduksi terjadinya resistensi insulin. Hal ini dapat menyebabkan berkurangnya penggunaan glukosa yang dimediasi oleh insulin di jaringan perifer. Resistensi insulin akan menyebabkan kegagalan pada poliferasi IRS (*Insulin Receptor Substrate*), penurunan translokasi GLUT-4, dan penurunan oksidasi glukosa sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel yang menyebabkan terjadi kondisi hiperglikemia. Sel beta pankreas pada awalnya akan melakukan kompensasi untuk merespon keadaan hiperglikemi dengan memproduksi insulin dalam jumlah yang banyak dan berujung pada keadaan hiperinsulinemia (Sulistyoningrum, 2010).

Pada penelitian ini pemberian diet tinggi lemak sebesar 51% kepada tikus kelompok L dalam jangka waktu yang panjang dapat meningkatkan produksi asam lemak bebas yang berujung pada keadaan hiperinsulinemia. Hiperinsulinemia yang terjadi terus menerus akan menyebabkan kegagalan pada sel beta dalam merespon kadar glukosa darah yang tinggi. Hal ini menyebabkan terjadinya abnormalitas jalur transduksi sinyal insulin pada sel beta dan terjadilah resistensi insulin. Resistensi insulin pada sel beta pankreas akan menyebabkan aktivasi jalur *caspase* dan peningkatan kadar *ceramide* yang selanjutnya akan menginduksi apoptosis pada sel beta (Ten and Maclaren, 2004). Kondisi hiperinsulinemia juga dapat menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas terutama spesies oksigen reaktif (ROS). Jika akumulasi ROS berlebih pada jangka waktu yang lama akan

menyebabkan stress oksidatif kronis, selain itu peningkatan ROS dapat menyebabkan kematian pada sel. Sel beta merupakan salah satu sel yang sangat rentan terhadap toksisitas ROS karena rendahnya enzim antioksidan di dalam pulau Langerhans (Mustofa *et al.*, 2010).

Pemberian kombinasi diet HFHF pada penelitian ini dapat memicu terjadinya pelepasan sitokin pro inflamasi yang dapat menginduksi apoptosis pada sel beta pankreas. Pelepasan sitokin pro inflamasi seperti IL-1 β , TNF α , IFN α , IFN β , IFN gama dan nuklear factor dipicu oleh meningkatnya MCP-1 secara berlebihan yang disebabkan oleh konsumsi tinggi lemak dan fruktosa. Sitokin ini selanjutnya akan menginduksi apoptosis pada sel beta melalui serangkaian transkripsi gen. Aktivasi NF kappa beta memicu produksi *nitric oxide* (NO), *chemokine* dan deplesi Calcium pada retikulum endoplasma (stress retikulum). Stress retikulum akan mengaktivasi *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan pelepasan sinyal apoptosis oleh mitokondria yang menyebabkan kematian sel beta (Lam and D, 2015).

Penurunan jumlah sel beta yang terjadi pada kelompok L selain disebabkan oleh konsumsi tinggi lemak juga disebabkan oleh konsumsi tinggi fruktosa. Pada penelitian yang dilakukan Luhu (2015) pemberian diet tinggi fruktosa (*High Fructose*, HF) dapat menyebabkan peningkatan berat badan dan peningkatan lipolisis. Peningkatan berat badan dan peningkatan lipolisis dapat menyebabkan terjadinya peningkatan asam lemak bebas yang dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel beta (Guilherme *et al.*, 2008). Fruktosa dapat memicu terjadinya apoptosis karena fruktosa sangat efisien dalam menginduksi *de novo lipogenesis* (DNL) dengan menyediakan atom karbon untuk gliserol dan asil-koA. Selanjutnya terjadi sintesis trigliserida dan

meningkatnya penimbunan lemak hepar yang menyebabkan penurunan sensitivitas insulin (Stanhope and Havel, 2008). Keadaan ini didukung oleh hasil penelitian pada tikus yang diberi diet dengan kandungan fruktosa 30% sudah dapat menginduksi sindrom metabolik dan pemberian fruktosa 60% dalam diet tikus selama 8 minggu menimbulkan hiperurikemia, hipertrigliserida, dan peningkatan VLDL yang berujung pada keadaan hiperinsulinemia yang memicu terjadinya apoptosis pada sel beta (Johnson *et al*, 2009).

Pemberian diet HFHF pada kelompok L selama 17 minggu memicu terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas. Sedangkan pada kelompok N yang diberi diet normal memiliki jumlah sel beta yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok N dikarenakan tidak banyak sel beta yang mengalami apoptosis. Pada penelitian yang pernah dilakukan pemberian diet HFHF selama 2 bulan dapat menyebabkan peningkatan berat badan pada tikus, selain itu juga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ROS dan resistensi insulin (Lozano *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Syamsul dkk., (2011) dengan pemberian diet tinggi lemak tinggi fruktosa selama 55 hari kepada tikus SD menunjukkan bahwa terbukti pemberian diet tersebut dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Peningkatan ROS dan resistensi insulin selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas sehingga terjadi perubahan pada jumlah sel beta dan kerapatan pulau Langerhans (Leonardi *et al.*, 2003).

Pada penelitian asupan energi terbesar yang dikonsumsi oleh kelompok L bersumber pada minuman fruktosa. Tingginya konsumsi fruktosa pada kelompok L juga dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel beta

pankreas. Fruktosa dan glukosa memiliki jalur metabolik yang berbeda. Fruktosa yang terserap akan diekstraksi oleh hepar melalui transport GLUT2. Setelah berada di dalam sel fruktosa dikonversikan menjadi bentuk *fructose-1-phosphate* yang kemudian diubah menjadi *glyceraldehyde-phosphate* dan *dihydroxy-acetone-phosphate* oleh enzim *fructokinase* dan *aldolase B*. Semua fruktosa yang masuk ke hepar dimetabolisme menjadi triose phosphatase yang secara sekunder diubah menjadi glukosa, glikogen, laktat, dan lemak. Sintesis triose phosphatase oleh hepar dalam jumlah berlebih akan menjadi prekursor liogenik (Tappy dan Anne, 2010). Pada penelitian ke hewan coba membuktikan bahwa diet hiperenerjik sukrosa dan fruktosa dapat menghasilkan efek hiperlipemik. Hal ini dapat menyebabkan meningkatnya berat badan dan resistensi insulin. Selain itu juga menyebabkan peningkatan yang signifikan pada glukosa plasma saat puasa, produksi glukosa oleh hepar, dan hepatic insulin resisten. Diet tinggi fruktosa berhubungan dengan obesitas, diabetes mellitus, dan resistensi insulin (Le *et al.*, 2009)

Jumlah sel beta pankreas yang lebih sedikit pada kelompok L menunjukkan bahwa pemberian diet HFHF memicu terjadinya kerusakan pada sel beta pankreas yang memproduksi insulin. Jika sel beta pankreas semakin sedikit maka insulin yang dihasilkan akan semakin sedikit pula sehingga menyebabkan Diabetes Mellitus Tipe 2.

6.3 Pengaruh Pemberian Diet HFHF Modifikasi AIN-93M dan Diet Normal Modifikasi AIN-93M Terhadap Histopatologi Pankreas

Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada organ pankreas digunakan untuk mengetahui tingkat kerusakan pada pulau Langerhans sebagai pengaruh pemberian diet HFHF. Pulau Langerhans merupakan kumpulan sel endokrin

yang tersebar di kelenjar eksokrin pankreas. Pada setiap pulau langerhans tersusun atas tiga tipe sel utama yaitu sel alfa, sel beta, dan sel delta (Guyton, 2016). Kerusakan pada struktur dan morfologi pulau Langerhans disebabkan oleh perubahan metabolik sistemik karena ketidakpekaan insulin dan hilangnya kontrol glukosa. Peningkatan pulau (hipertrofi) dan menurun (atrofi) dalam ukuran dirangsang oleh hipersekresi insulin yang disebabkan resistensi insulin (David *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil pengamatan pada preparat jaringan pankreas gambaran histopatologi pulau Langerhans tikus pada kelompok L terjadi kerusakan pada pulau Langerhans, bentuk pulau Langerhans menjadi tidak beraturan, ada bagian pulau Langerhans yang kosong, kerapatan sel menurun, dan terlihat inti sel yang mulai menghilang. Sedangkan pada tikus kelompok N, hasil pengamatan pada histopatologi Langerhans menunjukkan bahwa gambaran morfologi dan struktur pulau Langerhans normal, sel terdistribusi homogen di seluruh bagian pulau Langerhans, tidak terjadi kerusakan pada sel dan struktur pulau Langerhans, bentuk pulau Langerhans hampir bulat dan kerapatan sel baik.

Merujuk pada gambar 5.3 terlihat jika terdapat perbedaan gambaran histopatologi pankreas antara kelompok N dan kelompok L. Pada kelompok tikus L dengan diet HFHF mengalami kerusakan pulau Langerhans ditandai dengan perubahan bentuk pulau Langerhans menjadi tidak beraturan dan sel menjadi tidak rapat terlihat dari banyaknya bagian pulau yang kosong. Hal ini disebabkan oleh efek dari pemberian diet HFHF. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fransisca *et al.*, (2010) pada tikus diabetes bentuk pulau Langerhans tidak beraturan, inti sel endokrin mulai mengecil dan

menghilang, sel beta tidak tersebar merata di pulau Langerhans, dan ada rongga pada pulau Langerhans. Sedangkan pada tikus normal pulau Langerhans memiliki bentuk yang hampir bulat, sel beta terdistribusi merata di pulau Langerhans, dan pulau Langerhans terlihat penuh oleh sel. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada gambar 5.4.

Perubahan bentuk pulau dan penurunan kerapatan sel pada pulau Langerhans itu sendiri disebabkan oleh terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas. Konsumsi tinggi lemak tinggi fruktosa dalam waktu yang lama akan memicu terjadi hiperglikemi yang dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin (Guilherme *et al.*, 2008). Resistensi insulin pada sel beta pankreas akan menyebabkan aktivasi jalur *caspase* dan peningkatan kadar *ceramide* yang selanjutnya akan menginduksi apoptosis pada sel beta (Ten and Maclaren, 2004). Selain itu peningkatan pada sitokin-sitokin proinflamasi juga dapat menyebabkan peningkatan ROS dan terjadi pelepasan sinyal apoptosis sehingga menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas yang berujung pada kerusakan histopatologi pankreas (Lam and D, 2015).

Belum ada penelitian yang membahas mengenai pengaruh pemberian HFHF terhadap gambaran histopatologi pankreas. Perubahan histopatologi pankreas yang terjadi pada kelompok L disebabkan oleh pemberian diet HFHF. Kerusakan pada histopatologi pankreas kelompok L diakibatkan karena sel mengalami apoptosis sehingga mempengaruhi kerapatan dari sel beta pankreas. Apoptosis pada sel beta disebabkan oleh peningkatan asam lemak bebas, peningkatan MCP-1, peningkatan ROS, dan keadaan hiperinsulinemia yang terjadi akibat dari konsumsi diet HFHF (Guilherme *et al.*, 2008 ; Sulistyowati *et al.*, 2010)

6.4 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini adalah densitas pakan pada kelompok L dan N tidak berbeda jauh sehingga menyebabkan asupan energi dan zat gizi yang dikonsumsi hampir sama dan mempengaruhi perbedaan berat badan tikus kedua kelompok menjadi tidak signifikan. Untuk perhitungan jumlah sel beta dapat digunakan uji Imunohistokimia agar dapat sekaligus mengetahui apakah sel beta yang ada pada pulau Langerhans dapat memproduksi insulin dengan baik. Pada penelitian ini belum menggunakan uji Imunohistokimia dikarenakan sedang tidak tersedianya *antibody* di Laboratorium.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

- 7.1.1 Pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M menyebabkan jumlah sel beta pankreas menjadi lebih sedikit (77.13 ± 14.54 sel) jika dibandingkan dengan jumlah sel beta pankreas pada tikus dengan diet normal modifikasi AIN-93M (126.76 ± 14.71). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ($p = 0.000$). Hal ini disebabkan karena asupan tinggi lemak dan tinggi fruktosa dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas.
- 7.1.2 Pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M menyebabkan kerusakan pada gambaran histopatologi pankreas. Pada tikus dengan diet normal modifikasi AIN-93M gambaran pulau Langerhans masih baik yaitu bentuk pulau Langerhans hampir bulat dan sel terlihat lebih rapat. Sedangkan pada tikus dengan diet HFHF modifikasi AIN-93M memiliki asupan yang tinggi sehingga mulai terjadi kerusakan Pulau Langerhans yang ditandai dengan perubahan bentuk menjadi tidak beraturan dan menurunnya kerapatan sel. Hal ini disebabkan karena asupan yang tinggi dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel beta pankreas sehingga menyebabkan perubahan pada gambaran histopatologi pankreas.

7.2 Saran

Menurunkan densitas pakan normal hingga kurang dari 4 kkal/gram agar terjadi perbedaan asupan dan berat badan tikus yang signifikan. Pemberian perlakuan yang terlalu lama yaitu selama 17 minggu dapat menyebabkan tikus menjadi jenuh dan menurunkan asupan tikus. Selain itu untuk uji dalam perhitungan jumlah sel beta dapat digunakan uji Imunohistokimia untuk sekaligus mengetahui apakah sel beta yang ada masih aktif dalam memproduksi insulin.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahima, R.S. 2015. *Metabolic syndrome*. Springe Reference. Institute for Diabetes, Obesity, and Metabolism., USA. p. 743-760
- Allen, W. E. *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations (11th Edition)*, *Journal of Anatomy*, 2008, doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.00956.x.
- Bantle, J. P. Dietary Fructose and Metabolic Syndrome and Diabetes', *Journal of Nutrition*, 2009, 139(6), p. 1263S–1268S. doi: 10.3945/jn.108.098020.
- David, G.G and Shoback, D. *Greenspan's Basic and Clinica Endocrinology*. 8th Ed., 2008. McGraw Hill Professional
- El-baz, F. M., Abdelaziz, A., Abdelaziz, E., T. Kamel., A. Fahmi., Impact of Obesity and Body Fat Distribution on Pulmonary Function Of Egyptian Children', *Egyptian Journal of Bronchology*, 2009, 3(1), pp. 49–58.
- Ferreira, E. D. S., Silva, M.A., Demonte, A. and Neves, V. A. Soy β -Conglycinin (7S Globulin) Reduces Plasma and Liver Cholesterol in Rats Fed Hypercholesterolemic Diet. *Journal of Medicinal Food*, 2011, 14 (1/2): 94-100. doi: 10.1089/jmf.2009.0204.
- Fransiska, P.A., Winarso, D., Muwarni, S. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Curcuma longa L* terhadap Titer Interleukin-6 (IL-6) dan Gambaran Histologi Pankreas pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe 1. 2010, *Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya*
- Gajda, A. High fat diets for diet-induced obesity models, *Research Diets*, (October). 2008. pp. 2008–2010. Available at: <http://researchdiets.com/system/resources/BAhbBIsHOgZmligYMDeyLzA0LzlwLzEzXzU5XzI0XzU1MF9PYmVzaXR5LnBkZg/Obesity.pdf>.
- Guilherme, A., J.V. Virbasius., V. Puri., M.P. Czech., Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(5), pp. 367–377. doi: 10.1038/nrm2391.
- Guyton, A. C., Hall, J. E., 2014. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 12. Jakarta: EGC
- Johnson, R. J., Pozo, S.E.P., Sautin, Y.Y., Manitius, J., Lozada, L.G.S., Feig, D.I., *et al.* Hypothesis : Could Excessive Fructose Intake and Uric Acid Cause Type 2 Diabetes ?. *Endocrine Reviews*, 2014, 30 (1), pp. 96–116. doi: 10.1210/er.2008-0033.
- Kemenkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang

Kemenkes RI

Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan RI. 2011. Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Kusumastuty, I. Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus dengan Diet Aterogenik. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 2014, 1, pp. 50–56.

Kusumastuty, I. 2017. *Studi Pembuatan Pakan Tikus Modifikasi AIN-93M. Universitas Brawijaya*. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Lê, K. A., D. Fach., R. Stettler., M. Ith., R.Kreis., P. Vermathen., *et al.* A 4-wk high-fructose diet alters lipid metabolism without affecting insulin sensitivity or ectopic lipids in healthy humans', *American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 84(6), pp. 1374–1379. doi: 10.1073/pnas.1115183109.

Le, K.A., Ith, M., Kreis, R., Faeh, D., Bortolotti, M., Tran, C., Boesch C., and Tappy L. Fructose Overconsumption Causes Dyslipidemia and Ectopic Lipid Deposition In Healthy Subjects With and Without A Family History of Type 2 Diabetes. *The American Journal Clinical Nutrition*, 2009 89, 1760-1765.

Leonardi, O., G. Mints., and M. A. Hussain., Beta-cell apoptosis in the pathogenesis of human type 2 diabetes mellitus.', *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 2003, 149, pp. 99–102. doi: 10.1530/eje.0.1490099.

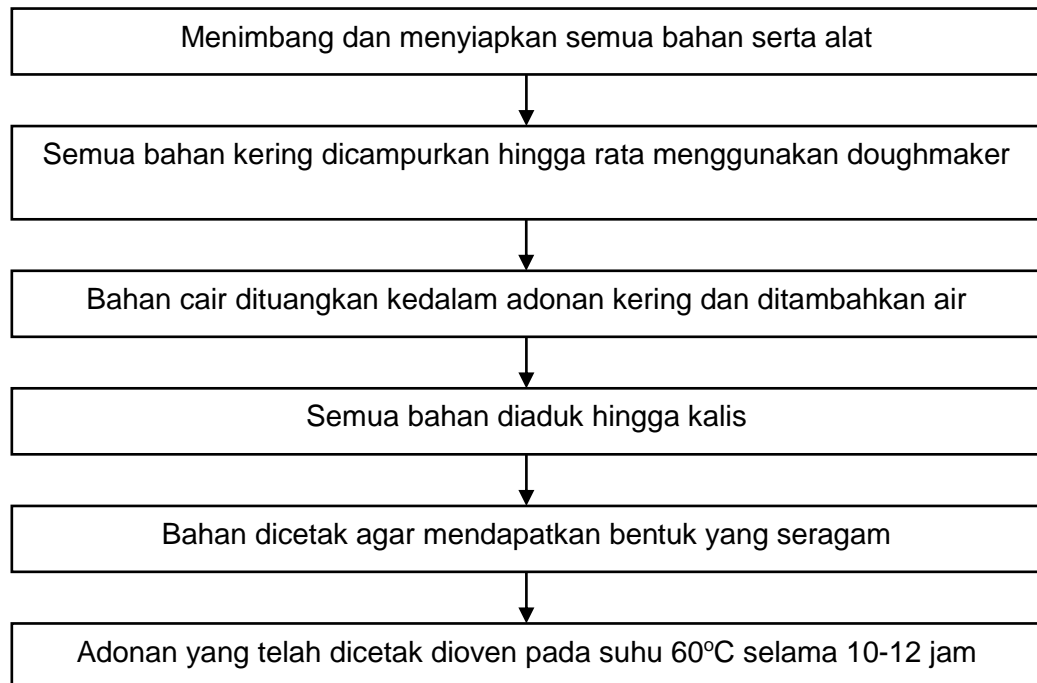
Lozano, I., R.V. Werf., W. Bietiger., E. Seyfritz., C. Peronet., M. Pinget., *et al.* High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: Impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications, *Nutrition and Metabolism*. Nutrition & Metabolism, 2006, 13(1), pp. 1–13. doi: 10.1186/s12986-016-0074-1.

Luhu, K.Y. 2015. *Pengaruh Diet Tinggi Fruktosa Rendah Magnesium Terhadap Histopatologi Jaringan Adiposa Tikus Putih Galur Wistar*. Tugas Akhir. Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

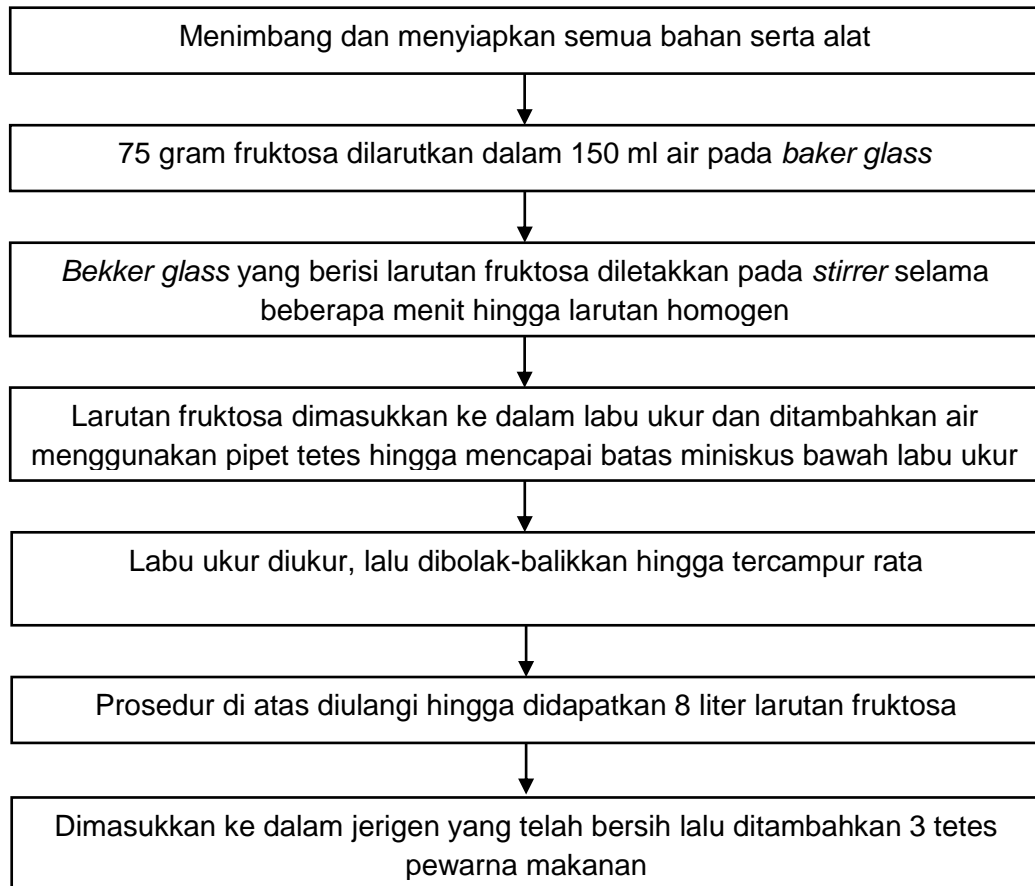
Marques-Vidal, P., M. Bochud., V. Mooser., F. Paccaud., G. Waeber., and P. Vollenweider. Prevalence of obesity and abdominal obesity in the Lausanne population', *BMC Public Health*, 2008, 8, pp. 1–5. doi: 10.1186/1471-2458-8-330.

- Mayasari, D.R., dan Rahayuni, A. Pengaruh Pemberian Serbuk Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) Terhadap Penurunan Kolesterol LDL pada Tikus Wistar Hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College*, 2014, 3 (4): 432-439
- Mustofa, M. S., D. Mukhtar., T. Susmiarsih., and A. Royhan., Pengaruh Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi Insulin Sel β Pankreas pada Tikus Diabetik The Influence of Soybean (*Glycine max* (L) Merrill) on Blood Glucose Levels and Insulin Expression of Pacreatic β Cells in, *Jurnal Kedokteran YARSI*, 2010, 18(2), pp. 94–103.
- Mutiyani, M., D.W. Soeatmadji., and B.R. Sunindya., Efek Diet Tinggi Karbohidrat Dan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel Beta Pankreas Pada Tikus Wistar. *Indonesian Journal Of Human Nutrition*. 2014. *Human Nutrriton*, 1(2), pp. 106–113.
- Namboodiri *et al.*, 2013. *Family Aggregation of High Density Lipoprotein Cholesterol. Collaborative Lipid Research Clinics Program Family Study*. American Heart Association: USA.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Ploumidou, K., Voulgari, A.K., Perea, D., Anastasiou, I., Mitropoulos, D. Basic and Translational Science: Effect of a Hypercholesterolemic Diet on Serum Lipid Profile, Plasma Sex Steroid Levels, and Prostate Structure In Rats. *Elsevier Inc*, 2010, 76(6), p. 1517.e1-1517.e5. doi: 10.1016/j.urology.2010.07.515.
- Prahastuti, S. Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 2011, 10 (2): 173 - 189
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H. and Fahey, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet, *The Journal of Nutrition*, 1993, 123(11), pp. 1939–1951. doi: 10.1093/jn/123.11.1939.
- Ridwan, E. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan, *Journal Indonesian Medical Assosiation*, 2013, 63(3), pp. 112–116.
- Sihombing, M. Status Gizi Dan Fungsihatimencit (Galur Cbs-Swiss) Dan Tikus Putih (Galur Wistar) Di Laboratorium Hewan Percobaan Puslitbang Biomedis Dan Farmasi, 2010, 20, pp. 34–40. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/179176-ID-status-gizi-dan-fungsi-hati-mencit-galur.pdf>.

- Stanhope, K. L. and Havel, P. J. Fructose Consumption : Potential Mechanisms for its Effects to Increase Visceral Adiposity and Induce Dyslipidemia and Insulin Resistance. *Wolters Kluwer Health*, 2008, 19: 16-24
- Sulistyoningrum, E. Tinjauan molekular dan Aspek Klinis Resistensi Insulin. *Mandala of Health*, 2010, 4 (2), pp. 131–138.
- Sulistiyowati, E., Julia, A.R., Mudita, D. Pemberian Tepung Daun Kelor terhadap Kadar Transferin Darah Tikus Putih Model KEP. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 2015, 2(2), pp. 108–116.
- Syamsul, E.S., Nugroho, A.E., Pramono, S. Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burn . F.) NESS.) dan Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resisten Insulin. *Majalah Obat Fakultas Farmasi UGM*, 2011, 16(3), pp. 124–131.
- Tappy, L. and Anne, K. Metabolic Effects of Sweetened Beverages Pathophysiology and Mechanistic Insights. *Clinical Microbiology Review Journal*, 2010, 3, 13-18.
- Ten, S. and Maclaren, N. Insulin Resistance Syndrome in Children, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2004, 89(6), pp. 2526–2539. doi: 10.1210/jc.2004-0276.
- Unger, R. H. and Orci, L. Lipotoxic diseases of nonadipose tissues in obesity, *International Journal of Obesity*, 2000, 24, pp. S28–S32. doi: 10.1038/sj.ijo.0801498.
- World Health Organization. 2012. What is Overweight and Obesity? (Online), (http://who.int/dietphysicalactivity/childhood_what/en/index.html diakses 27 Oktober 2017)
- World Health Organization. 2015. Overweight and Obesity. (Online), (http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_obesity/obesity_adults/en/ diakses 27 Oktober 2017)

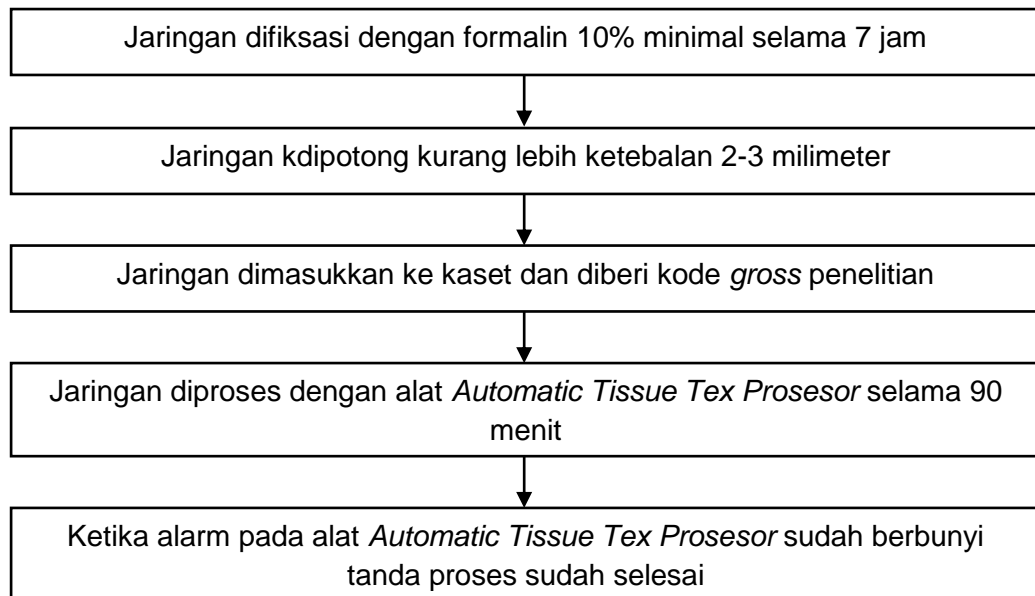
Lampiran 1. Alur Pembuatan Diet

Lampiran 2. Alur Pembuatan Fruktosa

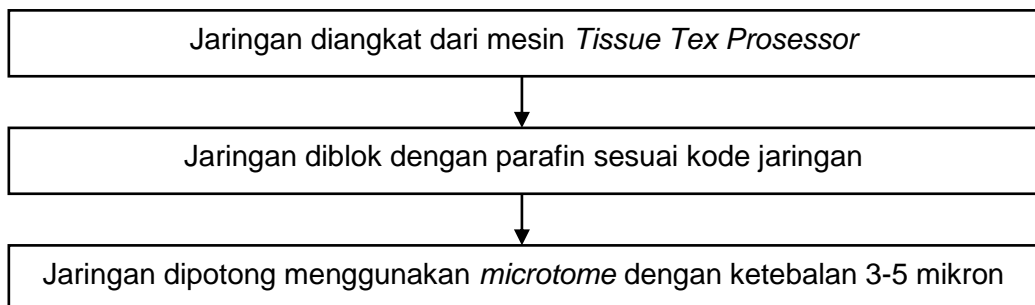


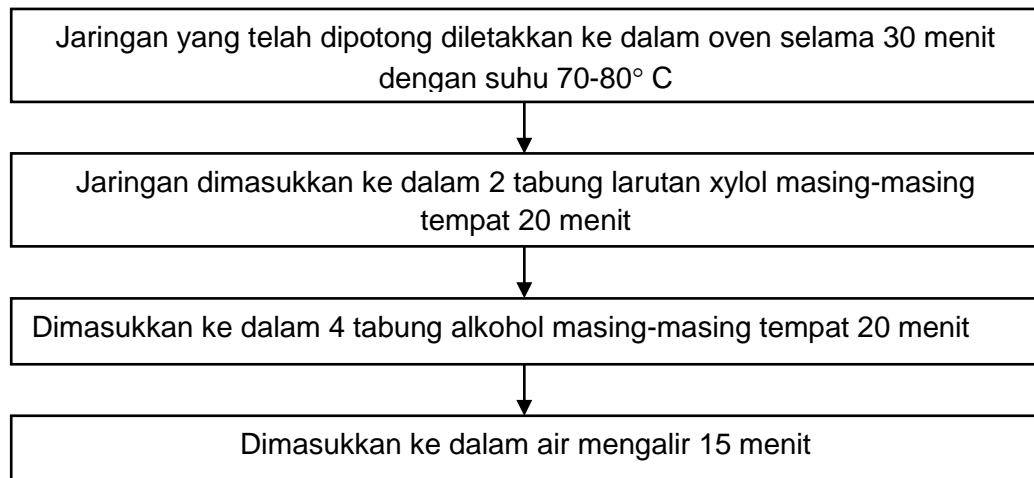
Lampiran 3. Alur Pembuatan Slide Histologi

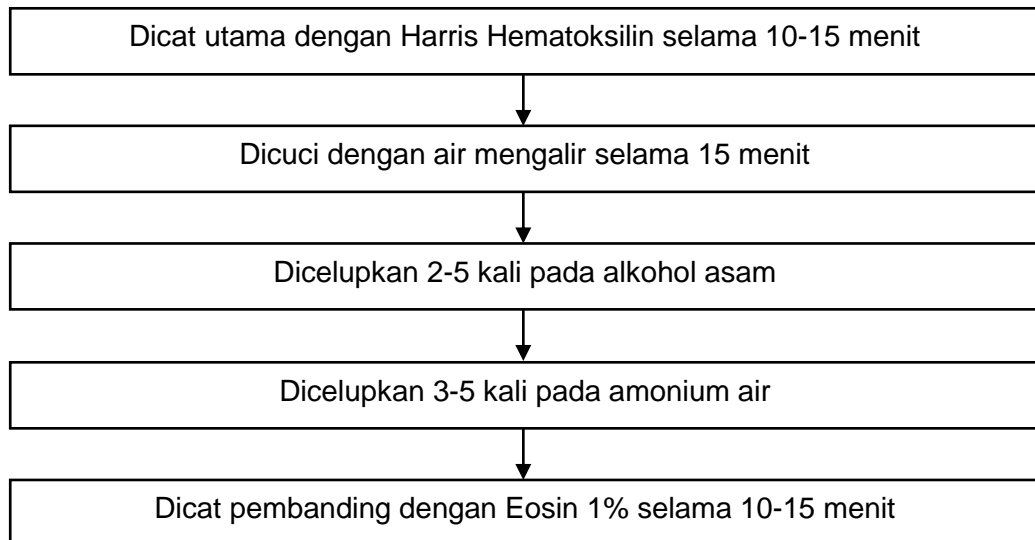
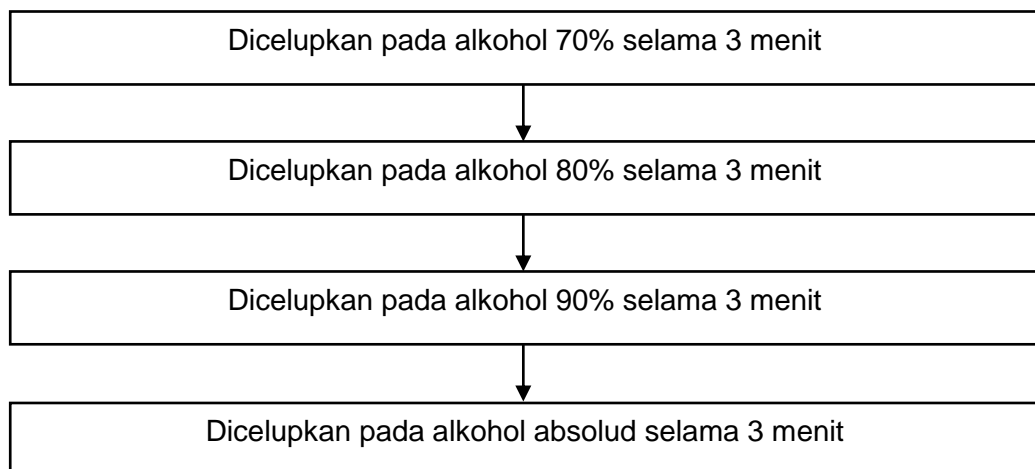
a. Proses Pemotongan Jaringan Makros

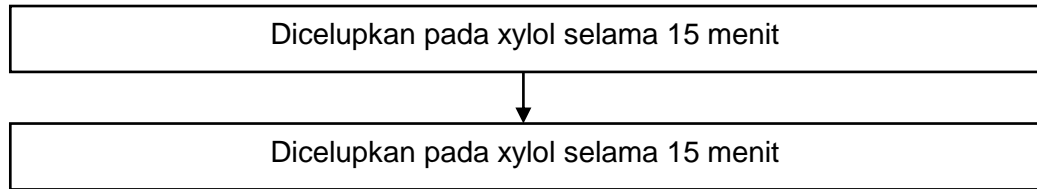
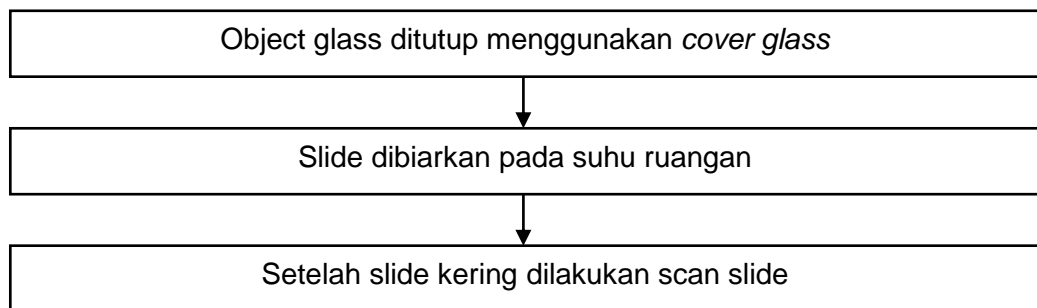


b. Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan



c. Proses Deparafinisasi

d. Alur Pengecatan Jaringan Pankreas**e. Proses Dehidrasi**

f. Penjernihan (*Clearring*)**g. Mounting**

Lampiran 4. Analisis Statistik Berat Badan Tikus

A. Berat Badan Tikus Datang

a. Uji Normalitas

10. Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
BBdatang	33	94,3%	2	5,7%	35	100,0%

Descriptives

			Statistic	Std. Error
BBdatang	Mean		242,1515	5,47344
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	231,0025	
		Upper Bound	253,3006	
	5% Trimmed Mean		244,0438	
	Median		247,0000	
	Variance		988,633	
	Std. Deviation		31,44253	
	Minimum		151,00	
	Maximum		302,00	
	Range		151,00	
	Interquartile Range		35,50	
	Skewness		-1,048	,409
	Kurtosis		2,438	,798

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BBdatang	,140	33	,102	,913	33	,012

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Mann Whitney

Ranks				
	Kelompok4	N	Mean Rank	Sum of Ranks
BBdatang	Lemak	17	16,21	275,50
	Normal	16	17,84	285,50
	Total	33		

Test Statistics ^a	
	BBdatang
Mann-Whitney U	122,500
Wilcoxon W	275,500
Z	-,487
Asymp. Sig. (2-tailed)	,627
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,631 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok4

b. Not corrected for ties.

B. Berat Badan Tikus Saat Perlakuan

a. Tes Normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BBawal	,076	30	,200*	,982	30	,864
BBakhir	,117	30	,200*	,961	30	,329
KenaikanBB	,094	30	,200*	,958	30	,281

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Independent T-Test

Group Statistics					
	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BBawal	Lemak	16	245,5813	22,05853	5,51463
	Normal	14	246,1071	19,10817	5,10687
BBakhir	Lemak	16	276,9200	35,65457	8,91364
	Normal	14	261,9286	29,29958	7,83064
KenaikanBB	Lemak	16	31,3387	26,35901	6,58975
	Normal	14	15,8214	23,71697	6,33863

Independent T-Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
BBawal	Equal variances assumed	,011	,916	-,069	28	,945	-,52589	7,59042	-16,07417	15,02238
	Equal variances not assumed			-,070	27,999	,945	-,52589	7,51607	-15,92189	14,87010
BBakhir	Equal variances assumed	,056	,814	1,247	28	,223	14,99143	12,02452	-9,63969	39,62255
	Equal variances not assumed			1,264	27,908	,217	14,99143	11,86474	-9,31601	39,29887
KenaikanBB	Equal variances assumed	,028	,868	1,685	28	,103	15,51732	9,21013	-3,34877	34,38341
	Equal variances not assumed			1,697	27,970	,101	15,51732	9,14347	-3,21312	34,24777

Lampiran 5. Analisis Statistik Asupan Diet dan Zat Gizi Tikus

A. Asupan

a. Uji Normalitas Asupan

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Asupan	30	85,7%	5	14,3%	35	100,0%

Descriptives

			Statistic	Std. Error
Asupan	Mean		8,9773	,58383
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,7833	
		Upper Bound	10,1714	
	5% Trimmed Mean		8,9398	
	Median		8,3250	
	Variance		10,226	
	Std. Deviation		3,19777	
	Minimum		3,83	
	Maximum		14,59	
	Range		10,76	
	Interquartile Range		5,98	
	Skewness		,279	,427
	Kurtosis		-1,377	,833

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Asupan	,171	30	,025	,915	30	,019

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Mann Whitney Asupan

Ranks				
	Kelompok Tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Asupan	Lemak	16	8,50	136,00
	Normal	14	23,50	329,00
	Total	30		

Test Statistics ^a	
	Asupan
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	136,000
Z	-4,656
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok Tikus

b. Not corrected for ties.

B. Energi

a. Uji Normalitas

Case Processing Summary						
	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Energi	30	85,7%	5	14,3%	35	100,0%

Descriptives

			Statistic	Std. Error
Energi	Mean		59,7517	1,98274
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	55,6965	
		Upper Bound	63,8068	
	5% Trimmed Mean		59,8224	
	Median		61,0300	
	Variance		117,938	
	Std. Deviation		10,85994	
	Minimum		38,89	
	Maximum		78,72	
	Range		39,83	
	Interquartile Range		16,07	
	Skewness		-,188	,427
	Kurtosis		-,823	,833

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Energi	,136	30	,163	,966	30	,428

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Independent T-Test Energi

Group Statistics

	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Energi	Lemak	16	67,7563	6,38890	1,59722
	Normal	14	50,6036	6,85642	1,83246

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Energi	Equal variances assumed	,823	,372	7,091	28	,000	17,15268	2,41904	12,19750	22,10786
	Equal variances not assumed			7,056	26,834	,000	17,15268	2,43085	12,16354	22,14181

C. Karbohidrat

a. Uji Normalitas

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Karbohidrat	30	85,7%	5	14,3%	35	100,0%

Descriptives

				Statistic	Std. Error
Karbohidrat	Mean			8,5460	,56955
	95% Confidence Interval	Lower Bound		7,3811	
	for Mean	Upper Bound		9,7109	
	5% Trimmed Mean			8,5298	
	Median			9,5900	
	Variance			9,732	
	Std. Deviation			3,11954	
	Minimum			4,17	
	Maximum			13,25	
	Range			9,08	
	Interquartile Range			5,90	
	Skewness			-,010	,427
	Kurtosis			-1,744	,833

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Karbohidrat	,208	30	,002	,871	30	,002

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Mann Whitney Karbohidrat

Ranks				
	Kelompok Tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Lemak	16	22,50	360,00
Karbohidrat	Normal	14	7,50	105,00
	Total	30		

Test Statistics ^a	
	Karbohidrat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	105,000
Z	-4,656
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok Tikus

b. Not corrected for ties.

D. Protein

a. Uji Normalitas

Case Processing Summary						
	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Protein	30	85,7%	5	14,3%	35	100,0%

Descriptives			Statistic	Std. Error
Protein	Mean		2,7817	,21922
	95% Confidence Interval	Lower Bound	2,3333	
		Upper Bound	3,2300	
	5% Trimmed Mean		2,7622	
	Median		2,3050	
	Variance		1,442	
	Std. Deviation		1,20073	

Minimum	1,06	
Maximum	4,81	
Range	3,75	
Interquartile Range	2,30	
Skewness	,295	,427
Kurtosis	-1,568	,833

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Protein	,206	30	,002	,878	30	,003

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji *Mann Whitney* Protein

Ranks

	Kelompok Tikus	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Protein	Lemak	16	8,50	136,00
	Normal	14	23,50	329,00
	Total	30		

Test Statistics^a

	Protein
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	136,000
Z	-4,657
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

Tikus

b. Not corrected for ties.

E. Lemak

a. Uji Normalitas

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Lemak	30	85,7%	5	14,3%	35	100,0%

Descriptives

			Statistic	Std. Error
Lemak	Mean		1,6593	,06105
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,5345	
		Upper Bound	1,7842	
	5% Trimmed Mean		1,6452	
	Median		1,6600	
	Variance		,112	
	Std. Deviation		,33436	
	Minimum		1,12	
	Maximum		2,50	
	Range		1,38	
	Interquartile Range		,42	
	Skewness		,552	,427
	Kurtosis		,442	,833

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Lemak	,118	30	,200*	,963	30	,369

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji Independent T-Test Lemak

Group Statistics

	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Lemak	Lemak	16	1,8413	,32782	,08195
	Normal	14	1,4514	,19525	,05218

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Lemak	Equal variances assumed	1,336	,258	3,883	28	,001	,38982	,10040	,18416	,59549
	Equal variances not assumed			4,012	24,905	,000	,38982	,09716	,18968	,58996

Lampiran 6. Analisis Statistik Jumlah Sel Beta

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ratarata	,107	30	,200*	,960	30	,310

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ratarata	Lemak	16	77,1250	14,54059	3,63515
	Normal	14	126,7571	14,71309	3,93224

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ratarata	Equal variances assumed	,047	,830	-9,276	28	,000	-49,63214	5,35071	-60,59258	-38,67171
	Equal variances not assumed			-9,268	27,382	,000	-49,63214	5,35507	-60,61267	-38,65162

Lampiran 7. Jadwal Kegiatan

Bulan	Agustus				September				Oktober				November				Desember				Januari			
Kegiatan	Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Persiapan																								
1.1 Persiapan Laboratorium Biosains																								
1.2 Persiapan bahan dan alat perawatan hewan coba																								
1.3 Persiapan ethical clearance																								
1.4 Persiapan hewan coba																								
2. Pelaksanaan																								
2.1 Aklimatisasi hewan coba																								
2.2 Pembuatan pakan HFHF modifikasi AIN-93M dan pakan normal modifikasi AIN-93M																								
2.3 Pembuatan cairan fruktosa 30%																								
2.4 Pemberian pakan HFHF modifikasi AIN-93M dan pakan normal modifikasi AIN-93M																								
2.5 Perhitungan asupan pakan dan fruktosa																								
2.6 Penimbangan berat badan																								

2.7 Pembedahan																								
2.8 Pembuatan slide histologi pankreas																								
3. Pengumpulan Data dan Hasil																								
3.1 Pengumpulan data																								
3.2 Pengolahan dan analisis data																								
4. Pembahasan																								
4.1 Pembahasan																								

Lampiran 8. Dokumentasi

A. Pemeliharaan

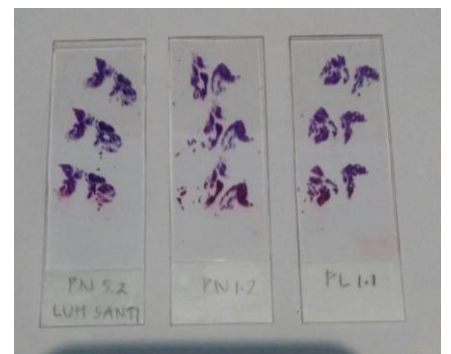


B. Pembedahan



C. Pembuatan Preparat





Lampiran 9. Keterangan Kelaikan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 368 / EC / KEPK / 10 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Perbandingan Penggunaan Diet Tinggi Lemak Tinggi Fruktosa dengan Diet Normal AIN-93M Modifikasi pada Pengembangan Tikus Model Obesitas.

PENELITI UTAMA : Fajar Ari Nugroho, S.Gz., M.Kes

ANGGOTA : Dian Handayani, SKM., M.Kes., PhD
Inggita Kusumastuty, S.Gz., M.Biomed
Adelya Desi Kurniawati, STP., MP., M.Sc
Etik Sulistyowati, S.Gz., M.Kes
Bella Amalia Fabiana
Nabila Prasisti
Adiza Pramesti Indirasari
Shella Ernita Firdayanti
Alfiani Hidayani

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang: 24 OCT 2017
Ketua:

Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.
NIK. 160746653

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang 67131 Telp. (0341) 8210000 Fax (0341) 8210004
E-mail: etik@ub.ac.id, etik@fkd.ub.ac.id, etik@fkd.ub.ac.id
http://www.fkd.ub.ac.id

Nomor : 434 /UN10.7/UPT/KEPK/2017
Lampiran :
Perihal : Penambahan Anggota Penelitian

08 DEC 2017

Yth. Fajar Ari Nugroho, S.Gz., M.Kes
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

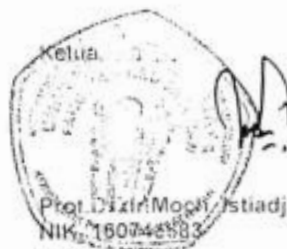
Menanggapi surat Fajar Ari Nugroho, S.Gz., M.Kes tanggal 3 November 2017 perihal permohonan penambahan anggota kelompok penelitian pada,

Judul : Perbandingan penggunaan diet tinggi lemak tinggi fruktosa dengan diet normal AIN-93M modifikasi pada pengembangan tikus model obesitas
Peneliti : Fajar Ari Nugroho, S.Gz., M.Kes
No. Ket. Laik Etik : 368 / EC / KEPK / 10 / 2017

Pada prinsipnya kami menyetujui perubahan tersebut. Dengan demikian pada *ethical clearance* yang sudah kami terbitkan bisa dilampirkan tambahan nama anggota peneliti sebagaimana yang Saudara ajukan a.n. :

- | | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| 1. Zhizhilia Zulfa Nabila | 7. Erlinda Febriningsih |
| 2. Shafira Nurmalitasari | 8. Diah Novida Oktaviani |
| 3. Diadjeng Dewita Ayu Hapsari | 9. Dinda Widya Hapsari |
| 4. Ilmi Atmimnuona Hedys | 10. Marcellina Magdalena |
| 5. Ihdina Linggar Pujiastuti | 11. Frinny Sembiring |
| 6. Luh Shanti Kuswandani | 12. Ni Kadek Anggita Diah Vitasari |

Demikian, semoga bermanfaat.



Prof. Dzikri Mochlis Istiadji ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum. Dr.H
NIK 160744583